UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1941-1942 N° 294

Recherches pharmacodynamiques sur les larves de Batraciens

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Mai 1942
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

SOUQUIÈRE Jean
Pharmacien
de 1re Classe de la Faculté de Paris

Examinateurs de la Thèse : M. Ch. LAPP, Professeur, Président
M. A. GUILLAUME, Professeur
M. P. CORDIER, Professeur
M. G. DASTUGUE. Prof. suppl.
} Juges

IMPRIMERIE
GÉNÉRALE
Jean de Bussac
2, Cours Sablon,
Clermont-Fd

1942

UNIVERSITE DE STRASBOURG — FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1941-1942 — N° 294

Recherches pharmacodynamiques sur les larves de Batraciens

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Mai 1942
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

SOUQUIÈRE Jean

Pharmacien
de 1re Classe de la Faculté de Paris

Examinateurs de la Thèse : M. Ch. LAPP, Professeur, Président ; M. A. GUILLAUME, Professeur ; M. P. CORDIER, Professeur ; M. G. DASTUGUE. Prof. suppl. — Juges

IMPRIMERIE
GÉNÉRALE
Jean de Bussac
2, Cours Sablon,
Clermont-Fd

UNIVERSITÉ DE CLERMONT

ECOLE DE PLEIN EXERCICE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

DIRECTEUR

M. J. CASTAIGNE, C. ✻, I. ✪ .... Membre associé national de l'Académie de Médecine.

SECTION DE PHARMACIE

PROFESSEURS

Mme L. BLANQUET, ✻, I. ✪..... Physique.
MM. G. DASTUGUE ..... Chimie biologique (Ch. des f.).
P. FEBVRE, ✪..... Pharmacie galénique
J.-B. FOURNIER, I. ✪..... Matière médicale.
D. GAUTHIER, I. ✪..... Chimie.
M. LEVADOUX, O. ✻, I. ✪... Hydrologie.
G. MORNAC, I. ✪..... Bactériologie et Hygiène.
R. VAURS, ✪..... Zoologie et Parasitologie.

PROFESSEUR SUPPLÉANT

M. G. DASTUGUE..... Histoire naturelle.

COURS COMPLÉMENTAIRE

MM. P. FEBVRE..... Pharmacie chimique.
D. GAUTHIER..... Chimie minérale.
J. LESCŒUR ..... Toxicologie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEAU, ✪ ..... Physique.
DORIER, ✪..... Chimie biologique.
VERGNE, I. ✪ ..... Micrographie.

SECRÉTAIRE

M. G. CUVIER, I. ✪.

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I. ✪, C. ✠
VOLMAR, *Assesseur*, ✻, I. ✪.
MARANDON, *Secrétaire*, ✻, ⚚, ⚜, ✪.

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✪, ✠.

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. ✪, C. ✠	Bactériologie.
	LAVIALLE, ✻, I. ✪, ✠	Botanique
	VOLMAR, ✻, I. ✪	Chimie organique.
	GUILLAUME, O. ✻, ⚚, I. ✪, ✠	Pharmacie galénique.
	LAPP, I. ✪	Chimie analytique.
	CORDIER, ✪	Pharmacie chimique.
	R. SARTORY, ✪, ✠	Matière médicale.

MAITRE DE CONFÉRENCE

M.	DUQUENOIS	Toxicologie.

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✪, ✠.

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY	Hygiène.
	LAVIALLE	Hydrologie.
	VOLMAR	Chimie minérale.
	GUILLAUME	Zoologie
	LAPP	Physique
	PRÉLOT	Législation et Déontologie.
	CORDIER	Chimie biologique.
	R. SARTORY	Cryptogamie.
	Mme LALLEMAND, ✪	Pharmacodynamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, ⚚, I. ✪	Chimie pharmaceutique.
	Mme LALLEMAND, ✪	Chimie et Physique.
	JÆGER	Histoire naturelle.
	LEDOUX	Bactériologie et Parasitologie

A MA GRAND'MÈRE

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

En témoignage de mon amour filial et de ma reconnaissance.

A MA FEMME

En témoignage de mon profond amour.

A MON FILS GÉRARD

A MA SŒUR ET A MON BEAU-FRÈRE

A MES BEAUX-PARENTS

ET A TOUS LES MIENS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR LAPP

PROFESSEUR DE CHIMIE ANALYTIQUE ET DE TOXICOLOGIE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
DIRECTEUR DE L'INSTITUT DE PHYSICO-CHIMIE
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Qui m'a fait l'honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.
Respectueux hommage.

A NOTRE JURY DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GUILLAUME

PROFESSEUR DE PHARMACIE GALÉNIQUE ET DE ZOOLOGIE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

MONSIEUR LE PROFESSEUR CORDIER

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE
ET DE PHARMACIE CHIMIQUE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

MONSIEUR LE DOCTEUR G. DASTUGUE

PROFESSEUR SUPPLÉANT A L'ÉCOLE DE MÉDECINE
PHARMACIEN EN CHEF DES HOPITAUX
DOCTEUR ÈS SCIENCES

A NOS MAITRES DE L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. DODEL

PROFESSEUR DE PHYSIOLOGIE
LAURÉAT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
MÉDECIN DES HOPITAUX
DOCTEUR ÈS SCIENCES

MONSIEUR LE DOCTEUR G. DASTUGUE

PROFESSEUR SUPPLÉANT DE PHYSIOLOGIE
CHARGÉ DE LA CHAIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE
LAURÉAT DE LA FACULTÉ ET DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
PHARMACIEN EN CHEF DES HOPITAUX
DOCTEUR EN PHARMACIE
DOCTEUR ÈS SCIENCES

Qui non seulement nous ont inspiré le sujet de cette thèse, mais qui nous ont constamment dirigé et guidé au cours de son élaboration, témoignage de notre vive et respectueuse reconnaissance.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543528_0039

INTRODUCTION

Les larves de Batraciens peuvent être considérées dans bien des cas comme des réactifs biologiques de choix pour les physiologistes et les pharmacologistes.

La possibilité de s'en procurer de façon abondante et de les grouper par lots de même origine, leur manipulation commode, leur croissance rapide et d'observation aisée, la facilité avec laquelle elles sont susceptibles d'absorber les substances à essayer soit per os, *soit par les branchies ou les téguments, les ont signalées depuis longtemps à l'attention des expérimentateurs.*

Mais de plus, les phénomènes de métamorphose si caractéristiques qu'elles présentent permettent de joindre à l'examen de la croissance pondérale celui de l'évolution morphogène et d'enrichir de façon considérable les résultats des essais entrepris.

Aussi nos Maîtres, Monsieur le Professeur Dodel *et Monsieur le Docteur* Dastugue, *dans le laboratoire desquels sont pratiquées depuis longtemps, chaque année, bien des expériences de ce genre, ont-ils jugé qu'il y aurait intérêt à grouper de façon coordonnée, dans un ouvrage d'ensemble, les recherches de pharmacodynamie exécutées sur les larves de Batraciens.*

Nous tenons à bien préciser qu'il s'agit de l'exposé de recherches pharmacodynamiques, et non pas d'un mémoire de physiologie ou d'embryologie, qu'il s'agit des larves de Batraciens, et non pas des œufs ou de l'animal parfait. Sans doute, avons-nous été parfois obligés pour l'intelligence du texte d'empiéter un peu hors du cadre que nous nous étions fixé et qui, de façon schématique, se ramène étant donné une substance médicamenteuse, à déterminer son action physiologique sur le têtard, mais nous avons toujours voulu dans l'ensemble y demeurer fidèles.

C'est ainsi que nous examinerons successivement l'influence des facteurs physiques tels que température et pression osmotique ;

des facteurs physico-chimiques : sels minéraux, acidité ionique : des facteurs alimentaires ; endocriniens ; enfin un certain nombre d'autres facteurs pharmacodynamiques chimiquement définis (narcotiques, saponines) ou non (venins, etc.).

Pour conserver plus d'unité à ce mémoire, il nous a paru utile de ne pas exposer séparément nos recherches personnelles, mais de les incorporer ici et là dans le texte, à la place qui leur devait logiquement revenir.

Par contre, nous avons rappelé dans un chapitre particulier préliminaire, l'essentiel des données relatives à la croissance et à la métamorphose de ces larves.

Nous ne nous dissimulons pas les lacunes que présente notre travail dont la bibliographie commencée, il y a près de cinq ans, était encore loin d'être terminée au moment où se sont déclanchées les circonstances actuelles et n'a pu, de ce fait, être normalement complétée. Nous souhaitons cependant que tel quel, il puisse rendre service aux nombreux pharmacologistes qui utilisent ce précieux réactif biologique que sont les larves de Batraciens.

En terminant, il nous reste à exprimer nos respectueux remerciements d'abord à Messieurs les Professeurs Dodel *et* Dastugue *qui, non seulement nous ont inspiré le sujet de cette thèse, mais qui nous ont constamment dirigé dans son élaboration et mis à notre disposition leur documentation personnelle, à Monsieur le Professeur* Lapp, *président et aux membres de notre jury ; à tous les Maîtres de la Faculté de Pharmacie de Paris, de l'Ecole de Pharmacie et de la Faculté des Sciences de Clermont qui nous ont fait bénéficier de leurs conseils et de leur enseignement.*

AVANT-PROPOS

LA MÉTAMORPHOSE DES BATRACIENS

Les processus de la métamorphose
Diversité suivant les espèces et les groupes

Au cours de leur croissance, les Batraciens subissent une crise caractéristique qui entraîne le passage de l'état larvaire à l'état d'animal parfait, celui de la vie aquatique à la vie terrestre : c'est la métamorphose.

Cette crise de croissance est marquée par des remaniements organiques dont l'importance varie considérablement suivant les groupes. Très accusée et caractérisée par de véritables bouleversements évolutifs ches les Anoures, elle offre des signes plus discrets chez les Urodèles. En outre, certains Batraciens ne se métamorphosent pas et conservent à l'état adulte la même organisation qu'à l'état larvaire.

Cette métamorphose se trouve, de plus, soumise à un déterminisme complexe, dans lequel les facteurs endocriniens jouent un rôle prépondérant.

Les processus de la métamorphose

Nous prendrons pour type de description, le développement de la Grenouille rousse.

Dans les mares des environs de Paris, la ponte a lieu en mars. Les œufs, relativement petits (2 mm.), sont enveloppés d'une forte capsule gélatineuse, et réunis en gros paquets, comprenant jusqu'à 10.000 éléments.

La première phase est la segmentation.

La seconde est l'embryogenèse qui débute lors de la gastrulation et aboutit à l'édification de la forme extérieure et de l'organisation de l'embryon.

Celui-ci devient ce que l'on appelle un têtard et après une période de croissance autotrophique, au cours de laquelle il fait appel exclusivement en vue de sa nutrition à ses réserves, il se met en quête de nourriture (limon, diatomées, conferves, matières animales ou végétales en décomposition) et grandit jusqu'à la métamorphose, dans son habitat aquatique.

Le têtard de Grenouille possède d'abord des branchies externes en forme de houppes qui s'atrophient à un moment donné, à partir duquel la respiration s'opère au niveau des branchies internes. Il est pourvu d'une queue aplatie, suivant le plan sagittal et dont l'axe est formé par le prolongement de l'axe nerveux cérébro-spinal, par la notochorde et par des masses musculaires striées, métamérisées en segments réguliers.

L'eau qui rentre par la bouche ressort par une sorte d'entonnoir latéral, à gauche, le *spiraculum*. La bouche, formant un bec corné, est garnie de petites dents, également cornées.

La vie larvaire, à l'état de têtard, dure en moyenne chez l'espèce étudiée, deux mois et demi à trois mois. Après ce délai, les processus métamorphiques entrent en jeu. Leur première manifestation est la poussée des membres postérieurs dont les bourgeons font éruption à la base de la queue, puis se développent rapidement, et deviennent des pattes complètement organisées.

Tandis que se poursuit leur croissance, les bourgeons des membres antérieurs apparaissent à leur tour l'un après l'autre. En même temps que se produisent les orifices latéraux qui vont livrer passage aux pattes antérieures, on assiste à un fait très marqué et très constant : c'est l'accélération du rythme respiratoire (de 65-70 à la minute à 120 et plus).

A ce moment, les changements s'étendent et s'accusent. Le têtard maigrit, change de forme : une dysharmonie de croissance s'institue ; les dimensions de la tête l'emportent sur celles du tronc qui, de globuleux, tend à s'amincir d'avant en arrière.

Les viscères subissent des modifications profondes. L'intestin qui est très allongé et enroulé en spire, se raccourcit et acquiert l'aspect et le trajet qu'il affectera désormais chez l'animal parfait.

Le foie et, chez certaines espèces le pancréas (Aron, 1925),

subissent une involution partielle. L'insuline n'est secrétée qu'à partir du déclanchement de la métamorphose (Aron, 1928).

Le squelette acquiert alors seulement ses caractères anatomiques et structuraux.

La peau devient beaucoup plus épaisse. La pigmentation change. Il y a chute du bec corné et élargissement de l'ouverture buccale.

La queue dégénère assez rapidement et il n'en subsiste plus temporairement qu'un court rudiment. Cette séparation s'effectue sans qu'il y ait séparation de fragments visibles. Il s'agit donc d'une régression plutôt que d'une chute.

Enfin, au moment où les pattes antérieures achèvent leur développement, avec un retard marqué sur les pattes postérieures, et où la queue est en train de disparaître, la respiration pulmonaire se substitue à la respiration branchiale. Le têtard est devenu Grenouille. Si l'animal est maintenu dans l'eau à partir de ce stade, il meurt par asphyxie.

Pendant la plus grande partie de la vie larvaire, la respiration pulmonaire coexiste cependant avec la respiration branchiale. Pour Wintrebert, les poumons jouent dès la vie larvaire un rôle important et suffisent à assurer l'hématose avec le concours de la respiration cutanée. Pour Bataillon, tout en servant d'appareil respiratoire compensateur, le poumon joue plutôt le rôle d'une vessie natatoire sur laquelle l'animal agit à volonté.

Remarquons que chez la larve, les mouvements du cœur sont synchrones des mouvements respiratoires (Schneider). Ce synchronisme est indépendant de la température, mais il se trouve détruit au moment où apparaissent les boutonnières expiratrices accessoires en avant des pattes (Bataillon). Alors que pendant la période larvaire le nombre des battements cardiaques était de l'ordre de 65 à 72 à la minute pour une température déterminée, on ne compte plus que 54 à 45 battements et même moins pour la même température après la sortie des pattes antérieures.

Toutes ces retouches de l'organisme larvaire répondent à un double mécanisme. L'un consiste dans la dégénérescence de certaines parties, tantôt totale et définitive comme dans le cas de la queue, tantôt partielle et accompagnée de remaniements structuraux comme dans le cas de l'intestin. L'autre répond à une croissance différentielle que Champy a mise en évidence et qui a pour base la multiplication des cellules en certaines régions alors qu'elle est abolie en d'autres.

Quant aux phénomènes chimiques consécutifs, nous renvoyons aux différents auteurs (Faure-Fremiet et Dragoiu, Faure-Fremiet et Du Vivier de Streel, Bialaszewicz, Bonnet et Barthélemy, Williams, Nedham, etc.) qui, après Claude Bernard et Bataillon, s'en sont occupés.

Diversités suivant les espèces et les groupes

La métamorphose diffère notablement d'une espèce ou d'un groupe à l'autre, tant par l'échéance de la vie larvaire à laquelle elle se manifeste que par l'importance des retouches organiques qu'elle entraîne.

Alors que l'échéance de la métamorphose varie dans des limites étroites chez *Rana temporaria*, par exemple, elle oscille beaucoup plus chez une espèce comme *Rana esculenta* qui éclot en mai, se métamorphose normalement en juillet, mais chez qui il n'est pas rare de voir des individus continuer à croître sous la forme larvaire et passer ainsi toute une année.

D'autre part, l'intensité des remaniements organiques qui caractérisent la crise métamorphique est plus ou moins grande suivant les groupes. Ce qui ne fait jamais défaut, c'est la substitution de la respiration pulmonaire à la respiration branchiale, ainsi que le développement des membres.

Cependant, chez les Urodèles, la queue persiste toute l'existence ; les viscères, la peau subissent des remaniements discrets ou nuls, le squelette général est peu modifié.

Enfin, il existe des Batraciens qui ne se métamorphosent pas et qui, avec leur organisation larvaire, gardent à l'état adulte leur vie et leur respiration aquatiques. Chez les uns, cette persistance à l'état larvaire est susceptible en certaines conditions d'habitat de prendre fin, et la métamorphose d'intervenir même tardivement. On a alors affaire aux Batraciens néoténiques dont l'Axolotl est un exemple bien connu. Chez d'autres, comme chez les Protées, elle correspond à une condition normale définitivement fixée par l'hérédité.

CHAPITRE PREMIER

FACTEURS PHYSIQUES

Température, Pression osmotique, Radiations, Espace, Agitation

Température

De nombreuses recherches ont montré l'existence d'un optimum et de températures limites, minima et maxima, au-delà desquelles le développement des larves s'arrête. Tels sont les résultats des expériences déjà anciennes de F. Lillie et Knowlton (1897), sur les têtards de *Rana viriscens*, celles de O. Hertwig (1898) sur *Rana fusca*.

D'après Rauber (1883), le développement, déjà commencé des embryons de *Rana fusca* cesse pour une température inférieure à + 5°. En maintenant des têtards dans de l'eau constamment refroidie, Barfuth (1887) a pu empêcher leur métamorphose et les conserver sans extrémités jusqu'au début de l'hiver. Par contre, maintenus à une température de 30°, les têtards se métamorphosent encore plus vite que lorsqu'on les traite par une dose optima de thyroxine (Belkin, 1934).

En soumettant des larves de *Rana esculenta* à des séjours alternés de températures chaudes (30°) et froides (8-10°), Adler a également obtenu des têtards de dimensions considérables, ne présentant pas de phénomènes de métamorphose.

A. Drzewina et G. Bohn (1919), ont constaté en s'adressant, tour à tour, à des œufs, des embryons et des têtards de Gre-

nouille, une sensibilité croissante vis-à-vis de la température entre 35° et 40°.

Ils ont observé que la température de 40° est toujours mortelle qu'il s'agisse de larves jeunes ou plus âgées, lorsqu'on y soumet brusquement les animaux. Les embryons de 6 mm. environ, aussitôt après l'éclosion ou une vingtaine d'heures après, sont parfaitement capables de résister à une température de 39°. Mais l'effet le plus remarquable d'une telle exposition à cette température pendant cinq minutes, est de provoquer presque toujours un arrêt plus ou moins complet de la croissance sans empêcher la métamorphose de se poursuivre.

Avec des embryons de la même ponte, mais de deux jours plus âgés, on obtient à 37° des résultats identiques à ceux obtenus pour une température de 39° sur des animaux plus jeunes.

Pression osmotique

La vitesse de développement des embryons de Grenouille est maximum quand le milieu extérieur possède une tension osmotique identique à celle du milieu intérieur. Il faut cependant tenir compte des adaptations qui peuvent s'effectuer dans des limites assez larges et dont l'amplitude se modifie avec l'âge de l'embryon (Bialaszewicz, 1921).

Si, en effet, on transporte aussitôt après leur éclosion une série de têtards dans des solutions de chlorure de sodium de concentration différente, on s'aperçoit que les modifications de poids sont proportionnelles aux points cryoscopiques correspondants. Par contre, si on expérimente sur des têtards plus âgés, on voit que ceux-ci perdent du poids dans une solution de chlorure de sodium à 0,08 M, avant leur métamorphose, et, au contraire, augmentent de poids dans la même solution dès que la métamorphose s'accentue (apparition des pattes antérieures), bien qu'il n'y ait eu aucune variation de la pression osmotique des tissus. D'où la conclusion citée par Adolph (1927), que la perméabilité de la peau se modifie de façon considérable au cours de la métamorphose.

D'après Gueylard et Portier, quand on place un poisson d'eau douce, non adapté, comme le Goujon, dans de l'eau salée, on le voit diminuer de poids progressivement et cette perte

de poids reste stable. On dit que le poisson a obéi aux lois de l'osmose.

Quand on recommence cette expérience avec une Epinoche, placée dans l'eau de mer, on constate qu'elle aussi diminue de poids, mais au bout d'une heure, une réaction se produit, l'Epinoche cesse de perdre du poids, puis bientôt récupère son poids primitif, et même le dépasse.

Que s'est-il passé ?

Dans la première phase, le poisson obéit aux lois de l'osmose : une certaine quantité d'eau sort par les branchies. Mais la branchie modifiée par le contact de la solution saline, laisse pénétrer dans le milieu intérieur des ions salins, d'où attraction de l'eau dans le milieu interne. Ainsi se trouverait élucidée cette courbe « diphasique » d'apparence si paradoxale.

Nous rapprocherons des expériences précédentes, celles que nous avons entreprises nous-mêmes en pesant à intervalles réguliers des séries de 3 ou 5 têtards relativement âgés, à un stade plus ou moins distant de l'apparition des phénomènes extérieurs de métamorphose et immergés soit dans diverses solutions salines, soit dans un certain nombre d'eaux minérales non diluées.

Tous les résultats sont ramenés à une valeur initiale de 1000.

1re Série : Chlorure de Sodium dissous dans l'eau de ville.

A. — *Lots de 3 têtards non métamorphosés*

Heure	Témoin (1)	1 p. 1000	3 p. 1000	7 p. 1000
0	1000	1000	1000	1000
1	958	1006	975	967
4	911	954	963	934
7	900	951	936	925

B. — *Lots de 5 têtards (pattes postérieures)*

Heure	Témoin	1 p.1000	3 p.1000	4 p.1000	5 p.1000	7 p. 1000
0	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1	965	961		978		953
5	905	943	922	926	863	812
24	1030	938	933	921	987	798

(1) Eau de ville pure.

2e Série : Bicarbonate de Sodium dissous dans l'eau de ville.

Lots de 5 têtards (pattes postérieures)

Heure	Témoin	1,45 p. 1000	4,80 p. 1000	5,75 p. 1000	7,20 p. 1000	10,05 p. 1000
0	1000	1000	1000	1000	1000	1000
5	965	946	907	938	838	867
23	993	887	954	899	883	828

3e Série : Chlorure de Calcium dissous dans l'eau de ville.

Lots de 5 têtards (pattes postérieures)

Heure	Témoin	1, 89 p. 1000	7,77 p. 1000	13,28 p. 1000
0	1000	1000	1000	1000
6	1037	962	872	926

4e Série : Eaux minérales embouteillées non diluées.

Lots de 3 têtards non métamorphosés

Heure	Témoin	Evian	Vittel	Contrexeville
0	1000	1000	1000	1000
1	972	970	986	950
3	944	905	913	895
7	923	900	929	898

On voit que la diminution de poids est, en général, d'autant plus accentuée que la solution est plus concentrée et la durée de l'expérience plus considérable.

Enfin, Drzewina et Bohn, en 1907, en soumettant les larves de *Rana temporaria* à l'action de solutions salines isotoniques ont noté l'apparition de phénomènes teratogènes, sur lesquels nous reviendrons, mais que nous signalons ici, parce qu'il faut les attribuer, d'après les auteurs, à l'influence de la tension osmotique du milieu.

Radiations

D'après Driesch (*in* Fredericq, 1939), la croissance des têtards de Grenouille n'est pas influencée par la *lumière*. Cette opinion nous paraît contraire à celle qui est communément admise et, pour notre part, nous avons toujours dirigé nos expériences de longue durée de telle sorte que l'éclairement soit rigoureusement égal pour tous les lots.

Par contre, il est possible peut-être d'admettre avec Pugh (1935), que, à énergie égale, les différentes radiations du spectre solaire n'ont pas d'action différente sur le développement.

Les recherches de Leredde et Pautrier (*in* Strohl, 1925), sont remarquables par la netteté des résultats obtenus. Elles consistèrent à placer dans deux aquariums, l'un en verre bleu cobalt, l'autre en verre rouge de photographe, des têtards de *Rana temporaria*. Ces aquariums étant constamment exposés à une lumière très intense, au bout d'un mois les têtards de l'aquarium bleu étaient transformés en Grenouille, alors que ceux de l'aquarium rouge étaient restés à l'état de larves. En outre, un examen microscopique démontra que, pour les radiations de courte longueur d'onde, les phénomènes de karyokynese étaient beaucoup plus actifs que pour les radiations de grande longueur d'onde.

L'action du *rayonnement solaire d'altitude* sur le développement des larves de *Rana temporaria* a été étudiée par Vilter, en 1930, à Leysin. Cet auteur a observé des différences de taille très marquées : les larves de l'obscurité ayant une dimension supérieure aux larves ensoleillées, mais les larves de l'obscurité présentent fréquemment des anomalies dont la plus apparente est une distension de la cavité abdominale.

D'après Bohn (1904), la lumière entraîne une déchéance plus rapide des individus en état de dénutrition ; l'ombre, au contraire, en ralentissant les phénomènes nutritifs, permet aux têtards de résister plus longtemps à l'inanition et à une partie du corps de se nourrir aux dépens de l'autre. L'ombre serait très favorable aux phénomènes de métamorphose.

L'irradiation par les *rayons ultra-violets* n'influence pas le développement des œufs de Batraciens, mais accélère la métamorphose des têtards sous certaines conditions (Abderhalden et Hartemann, 1928).

Après exposition aux *rayons X*, les mélanophores des têtards ont tendance à perdre leur aspect en étoile ou leur conglomé-

ration en paquets. pour devenir uniquement filiformes et suivre des directions déterminées (Levine, 1931).

J. Watrin, a souligné en 1926, le contraste frappant qu'il a observé, d'une part entre l'innocuité apparente des rayons X sur les larves de *Rana temporaria* (le cristallisoir renfermant les têtards était placé à 16 cm. de l'anticathode d'une ampoule Coolidge et recevait une dose de 10 H.) et, d'autre part, la nocivité très grande des rayons ultra-violets (le cristallisoir était placé à 80 cm. d'une lampe en quartz à vapeur de mercure, très riche en courtes longueurs d'onde et la durée de l'exposition était de 10 minutes). Les rayons ultra-violets agissent d'autant plus vite (perte de poids et même mort) que l'épaisseur du milieu aqueux interposé est plus faible.

A l'occasion de recherches effectuées sur des eaux minérales et dont nous aurons l'occasion de reparler, Wintrebert, en 1906, a montré que l'eau ordinaire, chargée artificiellement de doses extrêmement faibles d'*émanation*, dans les limites de la radioactivité des griffons, se montre favorable à la croissance et à la métamorphose des larves de Batraciens. Il a noté, de plus, que l'effet stimulant persistait dans une zone de radioactivité très étendue et que les doses toxiques étaient très supérieures aux valeurs fournies par les sources d'eau minérale.

Mayerowna (1922), a constaté qu'à la projection de 22 Holzknecht sur la thyroïde des têtards les rayons X produisaient un hyperfonctionnement (contrôlé histologiquement) de la glande et une petite accélération de la métamorphose. Au contraire, l'action des rayons sur tout l'organisme se traduisait par un hypofonctionnement de la glande, retard du développement et généralement mort avant la métamorphose. Le fait que, dans le premier cas, l'action des rayons était très faible et que dans les autres expériences (projection sur tout l'organisme), elle ait été très considérable prouve, pour l'auteur, la dépendance de la glande vis-à-vis des autres organes endocriniens et son peu d'autonomie.

D'après Cord et Marinus (1918), l'action des rayons X favorable sur la métamorphose provoquée des têtards de *Rana catesbyana* serait nulle sur la métamorphose spontanée. Pour Hykes (1936), l'une et l'autre métamorphose seraient accélérées par l'émanation du radium.

Ces résultats disparates ne sont pas faits pour surprendre. Il est probable qu'il doit exister toute une série de réactions intermédiaires variant suivant les modalités d'application des

rayons X et que sans connaître celles-ci de façon rigoureuse, il n'est pas possible de conclure.

Espace

Les têtards de Grenouille ne se développent pas si on les fait vivre dans un petit volume d'eau, même fréquemment renouvelée (Bilski, *in* Fredericq, 1939). Des observations analogues ont d'ailleurs été faites sur la taille des Cloportes d'eau, des Mollusques aquatiques, des Planaires, des larves d'Axolotl, des Poissons (Carpe).

D'après S. Ledebt (1914), il est nécessaire au cours des expériences de longue durée, de prévoir un minimum de 50 cm3 d'eau par têtard.

Pour Kroszezynski (1924), un séjour d'une semaine dans un volume de 20 cm3 d'eau (têtards de *Rana temporaria* et de *Pelobates fuscus* de petite taille) ou de 40 cm3 (têtards de grande taille), ne possède aucune action nocive, mais de plus petites quantités d'eau provoqueraient une diminution de la motilité.

En ce qui nous concerne, nous n'avons jamais employé un volume d'eau inférieur à 50 cm3 par têtard.

Agitation

Yung (1898), a recherché l'influence d'un mouvement de vagues sur le développement des têtards. Il a constaté une mortalité énorme et les rares têtards survivant ne se sont pas métamorphosés.

CHAPITRE II

FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES

Eau, Oxygène, Gaz carbonique, Acidité ionique

Eau

Les recherches de DAVENPORT, de SCHAPER, de BIALASZEWICZ, ont prouvé que la croissance des embryons de Grenouille a lieu principalement par l'absorption de l'eau du milieu extérieur. D'après SCHAPER, les déplacements de cette eau dans le corps de l'embryon représentent l'élément essentiel du mécanisme de la différence organo- et histogénétique. D'autre part, la quantité d'eau qui participe à l'édification de l'organisme reste toujours dans un rapport constant avec le degré du développement. L'eau remplit d'abord les cavités du corps et le tissu mésenchymateux embryonnaire et ne pénètre qu'ensuite à l'intérieur des cellules.

WINTREBERT a signalé, dès 1908, que les têtards d'Anoures sortis prématurément de l'eau présentent une régression métabolique des organes désuets tels que la queue, les branchies, le tube digestif larvaire, alors qu'il n'existe pas encore de spiracula complémentaire et que les membres n'ont pas acquis leur développement normal.

L'eau distillée s'est montrée toxique pour les têtards de Grenouille, de même que pour beaucoup d'autres animaux aquatiques. S. LEDEBT (1914), pense que cette nocivité doit être rapportée à la présence de traces de cuivre car l'eau redistillée ou distillée dans du verre neutre lui a semblé favorable à la

survie des animaux. L'eau de conduite est également favorable et même de petites quantités d'eau de conduite ajoutées à de l'eau distillée dans un appareil en cuivre suppriment la toxicité de cette dernière, sans doute par suite de la fixation des traces de cuivre de l'eau distillée par les matières organiques contenues dans l'eau de conduite.

Oxygène

On sait que chez les Invertébrés trois cas peuvent se présenter au point de vue de l'influence de la tension extérieure de l'oxygène : soit proportionnalité de la consommation d'oxygène à la tension extérieure, soit indépendance à peu près complète de la consommation pour des variations très étendues de tension, soit enfin régulation respiratoire fonctionnant seulement dans une marge bien définie.

Chez les Vertébrés, d'après des expériences faites surtout chez les Mammifères et les Poissons, se révèle presque toujours une consommation d'oxygène indépendante de la tension de ce gaz dans le milieu extérieur, aérien ou aquatique. Helff et Stubblefield ont montré, en 1931, que chez les têtards de *Rana pipiens*, également, il existe une remarquable régulation respiratoire efficace dans une très large marge de tension d'oxygène.

Cuenot élevant des têtards de *Rana temporaria* dans des conditions d'oxygénation intense (oxygène venant barbotter dans l'eau de l'aquarium et atmosphère d'oxygène pur) n'a trouvé aucune différence dans l'apparition des phénomènes de métamorphose comparativement aux témoins.

Inversement, l'auteur a utilisé un aquarium où un treillis métallique à mailles fines, immergé à deux centimètres de la surface libre de l'eau, empêchait les têtards de venir respirer l'air en nature. Là encore, dans ces conditions favorisant l'asphyxie, la métamorphose s'est accomplie tout à fait normalement. Mais les têtards transformés meurent presque immanquablement lorsque la queue est aux trois quarts résorbée.

En s'adressant, tour à tour, à des œufs, des embryons, puis des têtards de Grenouille, on assiste d'après Drzewina et Bohn (1919), à une croissance tout à fait remarquable de la résistance de l'animal vis-à-vis du manque d'oxygène.

Drastich (1925), a étudié de façon détaillée l'influence de la pression propre de l'oxygène sur le métabolisme des larves de *Salamandra maculosa*. Les larves élevées dans une atmosphère

d'oxygène ont développé des houppes branchiales, moins volumineuses et beaucoup moins ramifiées que les larves vivant dans un milieu pauvre en oxygène : 11 p. 100. De plus, tandis que l'épithélium branchial des premières était constitué par deux couches de cellules, il n'en comprenait qu'une seule chez les secondes. Les larves qui ont été maintenues dans un milieu pauvre en oxygène présentent un accroissement pondéral plus faible et une métamorphose beaucoup plus tardive que celle des larves témoins. D'autre part, le développement de ces dernières s'opère de façon plus lente que celui des larves vivant dans une atmosphère d'oxygène pur.

En complétant cet examen par l'étude des variations du métabolisme global, grâce à l'emploi d'un microspiromètre analogue à celui de Krajnik, on constate l'existence d'un rapport qualitatif et quantitatif très net entre la pression propre de l'oxygène d'une part et le développement des surfaces respiratoires et le métabolisme d'autre part. Drastich conclut de ses dernières expériences (1926) que l'oxygène favorise le métabolisme.

Entre certaines limites, la grandeur de la surface respiratoire sert de régulateur du rapport mutuel entre le métabolisme et la pression propre de l'oxygène du milieu ambiant, en maintenant constante la pression de ce gaz dans le milieu intérieur de l'animal.

Dans le cas où cette régulation par les surfaces respiratoires est insuffisante (sous une pression propre d'oxygène, trop élevée ou trop basse) l'organisme subit des changements plus profonds qui atteignent ses processus bio-chimiques intérieurs et qui se manifestent par des modifications (augmentation ou abaissement) du métabolisme, de la consommation de O^2 et de la production de CO^2 et donc, soit par un changement du coefficient respiratoire (qui dans ces expériences variait autour de 0,7 chez des animaux vivant dans l'oxygène pur et autour de 0,5 chez ceux qui étaient maintenus dans un milieu pauvre en oxygène) soit par un changement du rapport entre l'acquisition de l'énergie potentielle (surtout l'énergie de croissance) et la production de l'énergie par l'animal (motilité, réactilité).

Il semble que, sous une pression trop basse de l'oxygène, une oxydation complète ne puisse être réalisée malgré l'apport abondant de matières nutritives, de sorte qu'une certaine quantité de substance à valeur énergétique considérable est éliminée en dehors de l'organisme. Il est, de même, probable que

l'action des organes à sécrétion interne se trouve atteinte dans de semblables conditions.

En effet, il a été possible de constater que les dimensions et la structure cytologique de la glande thyroïde présentaient des différences suivant la richesse en oxygène du milieu extérieur. L'auteur suppose que quelques produits de l'oxydation incomplète conditionneraient une accumulation d'eau dans les tissus et contribueraient ainsi à l'augmentation des surfaces respiratoires. Cette hypothèse serait confirmée par le fait que les larves maintenues dans l'oxygène pur vivent d'une manière plus économique et renferment par unité de poids frais beaucoup moins d'eau que les larves vivant dans un milieu pauvre en oxygène.

Expérimentant sur des têtards de *Rana clamitans*, S.-A. Narins (1930), a montré que dans certaines limites, les *solutions chloroformiques* produisent une narcose typique avec une diminution marquée de la consommation d'oxygène. Les animaux soumis aux concentrations anesthésiantes conservent une faible et constante consommation d'oxygène tout le temps que dure l'anesthésie complète. Par contre, à l'inverse d'une opinion antérieurement émise, l'auteur n'a pu constater que le chloroforme à concentration faible augmentait la consommation d'oxygène.

La *caféine* aux concentrations M/500, M/750 et M/1000, ne modifie pas la consommation d'oxygène chez les têtards de Grenouille (Brinley, 1931).

Signalons enfin, les recherches de W. Etkin (1934), relatives à la consommation de l'oxygène suivant les stades de la métamorphose.

Gaz carbonique

Wintrebert, en 1907, a examiné l'influence du gaz carbonique sur le développement des têtards de *Rana temporaria*.

Rassemblés dans un récipient unique, ces têtards sont ensuite partagés au hasard en deux lots égaux de vingt et une unités. L'un des lots est mis dans un bocal cylindrique de 40 cm. de haut sur 15 cm. de diamètre rempli d'eaux au 2/3 ; l'autre est placé dans un cristallisoir cylindrique de 35 cm. de diamètre sur 15 de hauteur, rempli d'eau à moitié. Dans ce dernier seulement, on installe un grand nombre de plantes aquatiques : *Myriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Elodea*, *Conferves*. Avant l'in-

troduction des larves dans le premier récipient on fait barboter dans l'eau pendant dix minutes un courant d'acide carbonique ; on y dépose ensuite les vingt et une larves ; on chasse par un courant d'air rapide la couche de CO^2 accumulée dans l'atmosphère supérieure du bocal, et on ferme aussitôt celui-ci d'une plaque de verre. Cette manœuvre est répétée tous les matins avec de l'eau nouvelle, et on change en même temps l'eau des témoins.

On place les deux lots dans des conditions de milieu également favorables : exposition à une vive lumière, mais non aux rayons directs du soleil, fermeture par un couvercle de verre des deux récipients pour obtenir une température égale (20° environ), — même poids de nourriture carnée, composée de têtards de R. T. coupés en morceaux, et qui est renouvelée avec l'eau tous les matins.

A l'époque où débutent les métamorphoses, afin de prévenir les noyades, on établit pour chaque lot un système de planchettes flottantes garnies sur les bords de toile de corde tissée à grosses mailles qui permet aux larves de sortir facilement de l'eau ; on vérifie au bout du premier jour avec une solution de baryte la persistance de CO^2 dans l'eau et dans l'air du premier bocal.

Résultats. — 1° La présence dans l'eau d'une certaine quantité de CO^2 compatible avec la vie des larves ne détermine pas une éclosion plus rapide des phénomènes de métamorphose qui apparaissent au même moment chez les larves en expérience et chez les témoins.

2° La métamorphose elle-même, ne s'effectue pas plus vite ; on constate plutôt un ralentissement dans le processus de régression caudale.

3° La période du jeûne volontaire avant la métamorphose dura quatre jours au moins chez les larves CO^2 ; elle ne fut que de deux jours environ chez les témoins.

4° Dans le milieu carbonique, les larves vécurent et se transformèrent dans l'eau mais moururent d'asphyxie ou d'épuisement au cours et à la fin de la métamorphose.

Acidité ionique

Nous avons recherché entre quelles limites de pH la vie était possible pour les têtards de Grenouille.

En partant de solutions de $PO^4 Na^2H$ M/3 et $PO^4 NaH^2$ M/3, on obtient par mélange, des solutions mères de pH déterminé que l'on dilue au quart pour l'emploi. Les expériences ont eu lieu sur des têtards non métamorphosés provenant de la même ponte, et à la température du laboratoire (16°). On s'est assuré en opérant sur des prises d'essai que le pH des diverses solutions était resté invariable au cours de chaque expérience. Les solutions mères étaient faites avec l'eau distillée, les dilutions au quart, avec l'eau de ville.

PO_4Na_2H M/3	PO_4NaH_2 M/3	pH de la solution mère	pH de la dilution au 1/4	Survie
5 cm³	0	> 8,4	> 8,4	18 heures
4,8	0,2	8	8,3	30 heures
4,6	0,4	7,5	7,7	survie après 48 heures
4	1	7,0	7,1	survie après 48 heures
0	5	6,0	< 6,0	36 heures
0	0	6,9	6,9	survie après 48 heures

Ces résultats mettent en évidence l'existence d'une zone optimale comprise approximativement entre pH 7,1 et pH 7,7 et en deçà comme au-delà de laquelle la survie des têtards est assez limitée.

Nous rapprochons des expériences précédentes, celles de Keysselitz (1925). Cet auteur a immergé des têtards de Grenouilles dans 500 cm³ d'eau distillée additionnée de 10 cm³ de ClH N/10. Au bout d'une heure, un lot demeure dans la solution acide, deux lots en sont extraits : l'un pour être placé dans de l'eau de ville, l'autre dans de l'eau minérale d'Aix-la-Chapelle. Le nombre d'animaux survivant après une heure et demie d'expérience est de 5 sur 5 pour l'eau de ville et l'eau minérale ; les cinq têtards laissés dans la solution acide sont morts. Au bout de deux heures, survivants : dans l'eau de ville

1 sur 5 et 5 sur 5 dans l'eau minérale. Enfin des expériences comparatives effectuées avec des solutions de bicarbonate de sodium à 0,1 g. p. 100 ou de titre alcalimétrique égal à celui des eaux minérales essayées, ont montré que ces dernières n'agissaient pas seulement par leur alcalinité, c'est-à-dire par la somme des cations, mais encore par la nature des ions qu'elles renferment.

CHAPITRE III

FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES : SELS MINÉRAUX ET ORGANIQUES

Pénétration, Toxicité, Action sur la croissance

Pénétration

Bien des auteurs, comme nous le rappellerons plus loin, ont démontré que l'*iode* joue un rôle important dans la morphogenèse des Amphibiens et qu'il est, en particulier, un facteur essentiel de leur métamorphose. Belehradek et Huseley, en 1927, ont recherché dans quelle condition l'iode à l'état libre peut pénétrer dans l'organisme des têtards.

Prenant deux tubes à essai, les auteurs versent dans chacun d'eux 5 cm^3 d'empois d'amidon coloré au moyen de deux gouttes de teinture d'iode à 1 p. 50. Le second tube (B) sert de témoin. Dans le premier (A) on place deux têtards de *Rana fusca*. Après trois heures environ , il n'y a aucun changement de coloration dans le tube B, tandis que la couleur bleue a disparu dans le tube A. Pensant que le phénomène pouvait être dû à une hydrolyse de l'amidon en présence des diastases de la salive des têtards ou celles excrétées par leur peau, les auteurs ont versé dans le tube A deux nouvelles gouttes de solution d'iode. Le liquide étant rapidement redevenu blanc, l'hypothèse a été éliminée. Ils concluent de cette expérience que l'organisme des têtards est capable de détruire le lien d'adsorption iode-amidon pour former un autre lien plus solide iode-protoplasma.

La pénétration des sels de calcium a été envisagée par Luciani, Filomeni et Severi en 1930. Leurs recherches ont porté sur

les sels organiques peu dissociés et les sels minéraux fortement dissociés ainsi que sur des sels insolubles à l'état colloïdal.

L'assimilabilité des sels de calcium s'est montrée inversement proportionnelle à leur dissociation. Les sels insolubles (carbonates et phosphates) sont bien assimilés. Le phosphate tricalcique est le plus assimilable. Pourtant le sel colloïdal l'est encore davantage. L'ergostérol irradié favorise l'assimilation du phosphore, mais ne semble pas avoir une action nette sur celle du calcium.

Toxicité

Dans six vases de verre, Belehradek et Huxley (1927), versent respectivement 50, 100, 200, 300 et 400 cm^3 d'eau ordinaire renfermant 0,075 p. 100 d'iode libre dissous dans une petite quantité d'alcool. Dans chaque récipient, on plaçait cinq têtards de *Rana fusca* de même taille. Le tableau suivant donne les résultats après 24 heures :

N°	Cm^3 de solution iodée	Grammes d'iode par têtard	Têtards	
			Survivants	Morts
1	50	0,0075	5	0
2	100	0,0150	1	4
3	200	0,0300	0	5
4	300	0,0450	0	5
5	400	0,0600	0	5

Des expériences identiques ont fourni des résultats analogues.

Il est donc permis de conclure que l'action de l'iode libre n'est pas fonction de sa concentration dans la solution, mais dépend, d'une part de sa quantité absolue quel que soit le volume d'eau et d'autre part, du nombre d'individus immergés dans le liquide. Ce caractère quantitatif de l'action de l'iode libre fait présager une affinité spéciale entre cet élément et le protoplasma.

D'après les recherches de S. Ledebt (1914), les sels neutres des métaux *alcalins et alcalino-terreux* sont assez bien supportés à l'exception de ceux de potassium et de baryum.

ClNa est supporté plus d'une semaine à la concentration de N/10 ; ClNa N/8 est supporté quelques jours, et ClNa N/7 quelques heures. Dans les expériences de longue durée, on ne devra donc pas dépasser la concentration N/10. ClK tue les têtards dans la concentration N/20 et même N/50. Cl^2Ca est mortel en deux ou trois heures à N/10. A N/20 la survie est d'environ 24 heures.

Le magnésium est moins toxique que le calcium. Cl^2Mg est supporté à N/10.

Le strontium serait un peu plus toxique que le calcium. Le baryum est très toxique.

Oxalates et citrates sont très toxiques, probablement à cause de leur action décalcifiante. Leur nocivité augmente encore en présence des substances qui amènent un abaissement de la tension superficielle telles que l'oléate de sodium.

Nous avons effectué des expériences analogues avec les *chlorures de sodium*, *potassium*, *ammonium*, *calcium* et *magnésium* dissous dans l'eau de ville à concentration décinormale et nous n'avons remarqué aucun phénomène pathologique en ce qui concerne le sodium, le calcium et le magnésium pour des périodes d'observation de 4 à 24 heures. En ce qui concerne le chlorure d'ammonium, la survie a été en moyenne de 223 minutes et pour le potassium de 385, à la température de 16°.

La toxicité du *chlorure de manganèse* a été envisagée par G. Dastugue et M. Thonier, en 1941. Les expériences ont été effectuées sur des larves de *Rana temporaria* provenant de la même ponte, âgées de quatre semaines environ et ne présentant encore aucun phénomène de métamorphose.

Une solution de chlorure de manganèse à 1 p. 500 dans l'eau de ville produit la mort des têtards en 25 h. 1/2 ; à 1 p. 1.000 mort en 50 h. ; à 1 p. 2.500 mort en 125 h. ; à 1 p. 5.000 mort en 272 h. On peut donc affirmer qu'à ces doses, il y a proportionnalité quasi absolue entre la concentration de la solution en manganèse et le temps de survie des animaux. A partir de 1 p. 10.000, les solutions de chlorure de manganèse, tout en étant certainement peu favorables au développement de l'animal, permettent une survie indéfinie et ne peuvent plus être considérées comme toxiques à proprement parler.

D'après Sutter (1941), on peut maintenir sans inconvénients les têtards de *Rana temporaria*, pendant une semaine dans les solutions suivantes de *cuivre* : aspartate 500 millièmes, acétate 2,5 millionièmes, sulfate 1 millionième. Les seuls phénomènes

observés correspondent à un ralentissement de la croissance sur lesquels nous reviendrons.

Jules Durand (1938), résume de la façon suivante la toxicité du perchlorate de sodium sur les têtards :

Titre en ClO_4 Na p. 100	0	0,1	0,2	0,5	1	2
Nombre d'animaux	5	5	5	5	5	5
Survie après 12 h.	5	5	5	5	4	0
— 24 —	5	5	4	3	0	
— 36 —	5	4	0	0		
— 48 —	5	2				

Stassano et Gompel, en 1913, ont consacré plusieurs expériences à l'étude de la toxicité des sels de *mercure* vis-à-vis des têtards de Grenouille. Ces auteurs préparent des solutions équimoléculaires de benzoate, bi-iodure, bi-chlorure et cyanure de mercure dans l'eau de source. Un même volume (1/2 litre) de chaque solution est essayé vis-à-vis d'un même nombre de têtards (4). On forme ainsi quatre séries de récipients dont chacun correspond à l'un des quatre sels de mercure étudiés.

Contre toute attente, les têtards qui meurent les premiers sont ceux plongés dans les solutions de bi-iodure, qui sont les plus étendues et formées avec le sel de beaucoup le moins dissocié.

Au bout d'une heure, les têtards de la solution N/50.000 cessent de bouger et entre une à deux heures, ceux des solutions à N/100.000 et N/200.000.

Avec à peu près la même rapidité meurent les têtards de la série du bi-chlorure, mais à des concentrations beaucoup plus fortes en 1 heure environ à N/1.000 ; de 2 à 3 h. à N/5.000 et N/10.000. Les têtards plongés dans la solution de bi-chlorure à N/50.000 et au-dessus, semblent encore en parfait état de vie, alors que ceux plongés dans les concentrations correspondantes de bi-iodure ont cessé de vivre depuis 8 à 10 h.

Dans la série du benzoate, la mort se produit en 4 à 5 heures, à N/25.000, et en 7 à 8 h. à N/50.000.

Enfin, dans les solutions de cyanure, les têtards survivent plus longtemps. Ce n'est, en effet, qu'aux concentrations très fortes, N/100, que la mort survient assez rapidement, en 2 à

3 heures, c'est-à-dire, dans le même laps de temps que dans la solution à N/100.000 de bi-iodure.

D'après ces résultats, l'action toxique, pour le têtard, de ces différents sels de mercure, s'échelonne dans l'ordre suivant : bi-iodure, bi-chlorure, benzoate, cyanure, où, d'un côté, le bi-iodure l'emporte de beaucoup par son exceptionnelle toxicité sur le sublimé et où, de l'autre, le cyanure s'écarte considérablement de tous par son extrêmement faible toxicité. Il s'ensuit que, vis-à-vis du têtard, tout rapport cesse d'exister entre la dissociation électrolytique et l'activité toxique des sels de mercure, rapport qui se vérifie, au contraire, en ce qui concerne les bactéries.

Cependant, en diminuant le degré de dissociation électrolytique de chacun de ces différents sels, par addition d'hyposulfite de sodium, comme l'a déjà fait Sabbatani (1905), pour le sublimé et quelques sels d'argent, il est possible de diminuer parallèlement leur degré de toxicité vis-à-vis des têtards. Ceux-ci alors, meurent avec un retard de 1 h. dans la solution N/50.000 de bi-iodure et un retard de 24 h. dans la solution N/25.000 de benzoate additionnées respectivement de 1 ou 2 équivalents d'hyposulfite.

Par contre, cette même addition d'hyposulfite de soude aux solutions de cyanure de mercure, au lieu d'en diminuer parallèlement la toxicité déjà restreinte, par la formation de sels doubles moins dissociés comme cela a lieu pour le bi-iodure, le bi-chlorure et le benzoate, l'augmente très fortement. Les têtards qui, dans une solution à N/1.000 de cyanure, mouraient au bout de 24 heures seulement, meurent en 2 ou 3 heures à la suite de l'addition du dernier équivalent d'hyposulfite. Ce phénomène tient à la libération d'acide cyanhydrique provoquée par l'addition d'hyposulfite. On peut s'en assurer par la réaction très sensible et caractéristique de Deniges.

Les expériences que nous venons de résumer montrent donc que, si, d'une part, la toxicité des différents sels de mercure vis-à-vis du têtard ne s'échelonne pas d'après leur degré de dissociation électrolytique, d'autre part, le pouvoir toxique de chacun de ces sels diminue lorsque diminue le nombre de ses ions libres, ce qui est, au contraire, en parfait accord avec le principe général qui fait dépendre l'activité d'une substance quelconque de sa dissociation électrolytique.

Les auteurs sont donc ainsi conduits à chercher dans le mode d'action particulier à chaque sel de mercure étudié,

l'explication du désaccord constaté entre ce principe et leur toxicité vis-à-vis des têtards.

Trilok Nath Seth (1931) a examiné quelle était l'influence de la dilution sur la toxicité de As^2O^3 sur les têtards. Jusqu'à un certain point, l'augmentation de la dilution du poison (qui se dissocie en solution), détermine une diminution rapide de sa toxicité. Au-delà de ce point, la toxicité augmente avec l'augmentation de la dilution jusqu'à une nouvelle limite au-delà de laquelle la toxicité diminue de nouveau. Il faut donc tenir compte à la fois de l'influence des molécules non dissociées et des ions de la substance toxique.

Drzewina et Bohn, en 1912, ont effectué un grand nombre d'expériences sur la sensibilité des têtards de Grenouille vis-à-vis du cyanure de potassium suivant le stade de développement. Ils se sont aperçus que la résistance à la désoxygénation ainsi provoquée allait en décroissant au fur et à mesure que s'effectuait le développement.

Sur des embryons en train d'éclore, des solutions de KCN à 1 p. 100.000 et 1 p. 50.000 agissant pendant 24 heures sont bien supportées et ne deviennent toxiques qu'à partir de 24-36 heures. Sur des embryons éclos depuis deux jours, les mêmes solutions sont toxiques à partir d'un intervalle d'action de 17 heures ; de 10 heures pour des embryons de six jours ; de 4 heures pour des embryons de sept jours ; de 1 heure pour des embryons de douze jours ; de 30 à 45 minutes enfin pour des embryons de 21 et de 47 jours.

Les mêmes auteurs ont encore étudié les variations de résistance que présentent les embryons et les têtards de *Rana fusca* vis-à-vis de KCN à 1 p. 100.000 dans les cas où l'action du toxique n'a pas été suffisamment prolongée pour entraîner la mort rapide de l'animal. Avec les embryons nageant déjà très activement et munis de houppes branchiales ou bien s'operculisant, le traitement avait une durée de 15-5 heures. On note, dans ces conditions, une augmentation de volume du corps, si bien que l'animal, lorsqu'il arrête ses mouvements musculaires, est passivement entraîné à la surface du liquide d'immersion, et une dilatation des branchies qui amène un magnifique étalement de ces dernières. On note enfin, l'apparition d'un état d'anesthésie complet se prolongeant parfois plusieurs jours. Après une période plus ou moins longue de mort apparente, l'animal reprenait son activité. Aussi dans ces expériences, tant que l'animal ne se décompose pas, il ne faut point le considérer comme mort, les reviviscences étant assez fréquentes.

Dans ces états d'anesthésie, on peut d'ailleurs distinguer plusieurs degrés suivant les atteintes plus ou moins profondes que le traitement a porté aux facultés motrices de l'animal. Il arrive que chez l'individu rendu insensible par l'action du cyanure et la privation de l'oxygène non seulement les mouvements de locomotion sont abolis, mais encore les mouvements circulatoires sont arrêtés et ne se rétabliront que plus tard. Cependant, même dans ce cas, les mouvements ciliaires sont conservés avec toute leur intensité, de sorte que l'animal, en apparence mort et dans les branchies duquel on ne distingue aucun courant circulatoire, se déplace grâce aux mouvements des cils. D'autres fois les mouvements musculaires disparaissent, mais le courant circulatoire persiste, bien que très lent. Il y a ainsi, à la suite de l'inhibition des oxydations (sous l'influence du KCN) une sorte de *dissociation des activités de l'être.*

Les auteurs avaient supposé qu'ils allaient obtenir, par l'arrêt des oxydations causé par la présence de cyanure des effets tératogènes fréquents surtout au moment de la transformation de l'embryon en têtard. Or, ceux-ci ont été plutôt rares et peu caractéristiques : courbure dorsale, torsion de la queue, défaut d'operculisation, etc.

Il a été noté assez souvent parmi les effets tardifs du traitement de curieux mouvements de manège, les têtards nageant en décrivant des cercles ou des hélices.

Enfin, chez les têtards complètement formés, l'action toxique du cyanure est si intense qu'elle occasionne la mort à brève échéance.

Action sur la croissance et la métamorphose spontanée

Nous n'envisagerons ici l'action des sels que sur la croissance et la métamorphose spontanée, leur influence sur la métamorphose provoquée devant trouver sa place au chapitre consacré à la thyroxine.

On doit à A. Drzewina et G. Bohn (1907), une série d'études sur les modifications apportées à la croissance des larves de Batraciens par l'*eau de mer et les solutions de ClNa.*

D'une façon générale, l'eau de mer à des taux convenables favorise le développement des embryons, mais cette action favorable n'est pas proportionnelle à la concentration et à isotonie égale, le chlorure de sodium est moins favorable que l'ensemble des sels contenus dans l'eau de mer.

Les auteurs partent d'une solution de chlorure de sodium renfermant 1 g. de ce sel pur par litre. Des solutions isotoniques à celle-ci ont été faites avec de l'eau de mer et d'autres sels. On désigne sous le numéro 1 toutes ces solutions isotoniques et l'on établit une échelle de 8 solutions numérotées de 1 à 8 et dont les concentrations étaient entre elles comme les nombres 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8.

Si l'on maintient de façon continue les embryons dans ces diverses solutions, on s'aperçoit que c'est la solution n° 5 qui se montre la plus favorable, à condition toutefois de ne pas partir d'embryons trop jeunes ; il semble que l'eau de mer excitant d'une manière exagérée le développement rompt l'équilibre entre la partie formative et la partie nutritive de l'embryon ; par la suite, l'action favorable finit par l'emporter.

En ce qui concerne la durée du séjour dans les solutions salines, les auteurs ont constaté que celle-ci ne modifiait pas sensiblement le résultat final. Il suffisait, par exemple, d'une immersion de 24 h. pour déclancher des différences nettes entre témoins et individus traités. Dans ces conditions, il fut très facile d'étudier l'influence de la phase de développement sur la sensibilité des larves à ce mode de traitement. Ainsi, dans des expériences faites sur des larves de *Rana temporaria*, la ponte C a été traitée au moment même de l'éclosion ; la ponte B, au moment où les embryons se détachaient des coques des œufs pour se mettre à nager ; la ponte A, au moment où les embryons munis de houppes branchiales bien développées atteignaient 11 mm. ; la ponte A', enfin, au moment où les embryons de 16 mm. allaient se transformer en têtards. Dans tous les cas, la température était de 18 à 20 degrés.

Les résultats les plus favorables sont obtenus pour la concentration correspondant à la solution n° 5 d'eau de mer lorsqu'on la fait agir au stade moyen. A isotonie égale et à temps de contact identique, l'action des solutions de chlorure de sodium se traduit par un effet nul ou inhibiteur.

Sur les embryons de *Bufo vulgaris*, l'influence favorable de l'eau de mer (solution n° 5), est moins prononcée que dans le cas de *Rana temporaria* ; elle se manifeste surtout au début et semble s'atténuer dans la suite du développement. Mais le contraste entre les embryons traités par l'eau de mer et ceux traités par ClNa est plus frappant encore ici que chez *Rana temporaria* ; dans la solution n° 5 de ClNa, en effet, les embryons subissent un arrêt presque complet du développement et ne tardent pas à mourir.

Au cours de ces expériences, les mêmes auteurs ont eu l'occasion de noter des *manifestations teratogènes*. Dans les solutions n° 5 qui exercent une action optima sur la croissance des embryons, on n'obtient des monstres qu'exceptionnellement ; à une certaine distance au-dessus et au-dessous de l'optimum, on en obtient souvent en proportions considérables, et ces monstres présentent des caractères différents dans les deux cas : 1° monstres courts, à corps gros et large, à queue très courte et large, dans les solutions n° 3 ; 2° monstres à corps petit et étroit, à queue allongée et étroite, présentant une courbure très accentuée à concavité dorsale, dans les solutions n° 7 et n° 8. Ainsi, en allant de la solution n° 3 à la solution n° 8, la proportion de têtards monstrueux diminue d'abord progressivement, devient nulle (solution n° 5), pour augmenter ensuite peu à peu.

Dans de nouvelles expériences, au lieu de maintenir les embryons d'une façon continue dans les solutions, les auteurs ont fait agir celles-ci pendant un temps relativement court, et ont ainsi constaté qu'un séjour de vingt-quatre heures suffit pour produire des monstruosités ; mais, celles-ci n'apparaissent qu'au moment de l'operculisation, l'effet tératogène de la solution saline se trouve plus ou moins tardif, suivant le stade que l'on a traité.

Si on traite les embryons au moment même de l'éclosion, on n'obtient que de rares monstruosités, peu prononcées d'ailleurs ; il est à remarquer qu'au même stade, l'effet des solutions salines sur la croissance est également peu prononcé. En partant d'embryons un peu plus âgés, les effets tardifs sont des plus nets. Enfin, si on fait agir les solutions au moment même de l'operculisation, ou bien on obtient des monstres presque immédiatement, ou bien, quand l'operculisation est plus avancée et l'intestin du têtard en train de s'allonger, on détermine très rapidement la mort des individus traités.

Il est à remarquer qu'avec l'eau de mer et les chlorures de sodium et de lithium, à taux isotoniques bien entendu, on obtient exactement les mêmes monstruosités. Il n'y a donc pas dans ce cas action spécifique du sel ; l'influence de la tension osmotique semble être prédominante.

Drzewina et Bohn ont encore effectué un certain nombre d'expériences comparatives avec le chlorure de lithium sur les embryons de *Rana temporaria* déjà éclos. On sait, en effet, à quel point ce sel est toxique et sa valeur tératogène supérieure à celle des autres chlorures.

Avec la solution n° 1, un séjour de vingt-quatre heures a été souvent compatible avec la survie des embryons. On assiste alors à un ralentissement, voire un arrêt complet du développement ; la mort est survenue plus ou moins rapidement ; les embryons qui sont arrivés jusqu'au stade de la transformation en têtards sont devenus des monstres. L'action toxique se manifeste avec d'autant plus de rapidité et d'intensité que l'on se rapproche davantage du stade critique de la transformation des embryons en têtards.

On obtient des résultats analogues avec la solution n° 1, en ayant soin de ne la faire agir que dix-huit heures.

La solution n° 5 de ClLi mérite une mention particulière, parce que, contrairement à ce que l'on pourrait croire, son effet ne semble guère être plus nuisible que celui de la solution précédente ; dans certains cas même, elle a paru beaucoup moins nocive. Or, en traitant les embryons au même stade avec l'eau de mer diluée, on trouve que l'action de celle-ci comporte un optimum et que cet optimum correspond à la solution n° 5. Il est donc tout à fait frappant que parmi les solutions de ClLi, pourtant éminemment toxiques, la solution n° 5 soit la moins nuisible, comme si l'effet de la pression osmotique venait contrecarrer l'action toxique du sel.

En 1930, Dodel et Jouve ont étudié, à leur tour, l'*action des chlorures* (sodium, calcium, magnésium et manganèse) sur la croissance globale et la croissance morphogène des larves de *Rana temporaria*.

Les têtards étaient placés cinq jours après leur éclosion, par lots de six, dans des bacs de verre identiques, contenant chacun 500 cm³ d'eau de conduite. Un lot servait de témoin (eau de ville seule) ; dans les autres, on ajoutait les différents chlorures étudiés à la dilution de 1 p. 100.000. Les têtards étaient nourris avec du jaune d'œuf de Poule desséché. Les progrès de leur croissance étaient suivis au double point de vue de l'augmentation de poids (jusqu'au début de la métamorphose seulement) et de l'apparition des différents stades de métamorphose.

En ce qui concerne le poids, les auteurs aboutissent à la conclusion que ClNa est indifférent ; Cl^2Mg retarde ; Cl^2Ca et surtout Cl^2Mn accélèrent.

En ce qui concerne l'apparition des phénomènes de métamorphose, les auteurs notent un retard pour le magnésium, une accélération marquée pour le calcium et le manganèse.

Dastugue et Thonier, en 1941, ont cherché à vérifier et à préciser ces conclusions en ce qui concerne le *manganèse.*

Une série de larves de Batraciens provenant de la même ponte et âgées de deux semaines environ, est répartie par groupe de dix dans des bocaux identiques et soumis à un éclairement égal. Chacun d'eux renferme 500 cm³ d'eau de ville. La nourriture est constituée par des particules de jaune d'œuf desséché à l'étuve à 40° et de fragments verts de végétaux. L'eau des bacs est changée tous les jours pour éviter le développement des moisissures et l'apparition de phénomènes de fermentation.

Le premier lot servant de témoin comprend de l'eau de ville pure ; les deuxième, troisième, quatrième et cinquième lots respectivement, une solution de chlorure de manganèse dans l'eau de ville à 1/1.000.000, 1/100.000, 1/50.000 et 1/10.000. Les pesées des animaux de chaque lot ont été effectuées les 1er, 10e et 20e jours de l'expérience. Les résultats ramenés à un poids initial de 100 sont rassemblés dans le tableau suivant :

Lots	Cl_2Mn	1er jour	10e jour	20e jour
1er	0	100	133	165
2e	1/1.100.000	—	146	161
3e	1/ 100.000	—	127	139
4e	1/ 50.000	—	127	152
5e	1/ 10.000	—	121	116

Nous voyons donc que, mis à part les résultats de la troisième pesée, qui a été opérée de façon trop tardive (le jour même où les phénomènes de métamorphose commençaient à se déclarer), le Cl^2 Mn exerce une influence favorable à la dilution de 1 p. 1.000.000 et qui devient défavorable pour des concentrations supérieures.

En ce qui concerne l'apparition et la succession des phénomènes de métamorphose, on note un retard très accentué par le Cl^2Mn à 1 p. 10.000, moins net à 1 p. 50.000 ; une action légèrement favorable à 1 p. 100.000 et enfin, très favorisante à 1 p. 1.000.000.

Sous l'action de certains sels de *cuivre* (aspartate 500 millièmes ; acétate 2,5 millionièmes ; sulfate 1 millionième) les principaux effets observés par Sutter (1941), correspondent à une perte de poids et à une diminution de la longueur totale

par rapport aux témoins. La moyenne des chiffres fournis est, pour la diminution de poids, 80 mg. (aspartate), 60 (acétate) et 70 (sulfate) ; pour la diminution de taille (longueur totale), 62, 55 et 19 mm. La queue est la plus touchée, 42, 36 et 13 mm. contre 20, 19 et 6 pour le corps. Il n'y a aucune modification de la longueur des pattes postérieures, aucune action du côté des membres antérieurs.

Wintrebert, en 1906, a été le premier auteur à s'occuper de l'influence possible des *eaux minérales* naturelles sur la croissance des larves de Batraciens. Mais les expériences de Wintrebert furent entreprises surtout du point de vue de la radioactivité, et n'envisagèrent que les sources de Plombières. Citons également les publications de Kopf (1925), sur les eaux de Marienbad et de Schneyer (1928) sur celles de Gastein.

Des recherches plus étendues furent pratiquées par P. Dodel, en 1932. L'on place quelques jours après leur éclosion des lots de sept têtards provenant de la même ponte dans des bacs de verre identiques, renfermant, soit 500 cm^3 d'eau de conduite seule (témoins), soit 25 cm^3 d'une eau minérale donnée, diluée à 500 avec de l'eau de ville. Les têtards sont nourris avec du jaune d'œuf de Poule desséché qui constitue pour eux une ration complète non carencée. L'eau des bacs et l'alimentation sont renouvelées toutes les 48 heures. Les progrès de croissance des têtards sont suivis au double point de vue de leur augmentation de poids (jusqu'au début de la métamorphose seulement) et de l'apparition des différents stades de la métamorphose.

Le Mont-Dore (Chanteurs) active fortement la croissance ; Royat-Eugénie et Vichy-Célestins la retardent, ainsi que Châtel-Guyon (Deval).

L'analyse de ces résultats, comme de tous ceux que l'on obtient avec les eaux minérales sur tel ou tel phénomène biologique est rendue très difficile par suite de la complexité des facteurs en présence. Toutefois, comme il s'agit d'eaux minérales embouteillées, toute influence relative à la radioactivité peut être éliminée. Seules les substances dissoutes sont à retenir, et l'auteur souligne le rôle possible du manganèse.

G. Dastugue sur les eaux minérales de Châteauneuf-les-Bains, en 1933 ; G. Dastugue et J. Godonnèche, sur les eaux de La Bourboule, la même année ; G. Guidi sur les eaux de Salsomaggiore, en 1937, ont retrouvé des résultats analogues.

Enfin, d'après Binet et Magrou (1931), l'adjonction d'hyposulfite de sodium (1 p. 1.000) à la solution où baignent les têtards, accélère notablement l'apparition des phénomènes de métamorphose.

CHAPITRE IV

FACTEURS ALIMENTAIRES

Inanition, Absorption et assimilation, Élevages septiques et aseptiques, Protides, Glucides, Lipides, Régimes complexes, Vitamines et aliments irradiés

Inanition

L'influence de l'inanition sur le développement des larves d'Amphibiens a été étudiée par un assez grand nombre d'auteurs qui ont abouti à des résultats contradictoires.

Barfuth en 1887, Bohn en 1904, concluaient à une accélération de la métamorphose sous l'influence de l'inanition. Héron-Boyer (1877-1884), montrait que si des têtards de Batraciens anoures sont conservés dans des aquariums où ne se trouvent que des plantes aquatiques, ils arrivent difficilement à se transformer. Bataillon (1891), admettait qu'il était possible en réduisant en quelque sorte l'alimentation à son minimum de fixer la larve pendant un temps considérable à un stade déterminé. Nussbaum (1906), affirmait que les gonades des têtards se développent parfaitement quel que soit le degré d'alimentation des individus. En 1922, Kopec s'est élevé contre l'opinion de Barfurth. Podhradsky (1923), ainsi que Krizenecky et Petrov (1926), ont cherché un certain accroissement en longueur des têtards soumis au jeûne. Enfin, Podhradsky (1923) et Hertwig (1924), ont examiné les modifications histologiques des organes au cours de l'inanition.

Nous prendrons comme type de description les expériences effectuées par Arager, en 1925, dans le but d'étudier l'influence de *la famine sur le développement des gonades* des têtards. Toutes

les observations ont été faites dans les mêmes conditions de température et de lumière dans des récipients de même grandeur sur des têtards de *Bufo vulgaris*, provenant de la même ponte.

Dans une première série d'expériences, les têtards ont été complètement privés de nourriture. L'eau était changée tous les jours. La grande mortalité des animaux n'a pas permis de prolonger l'examen plus de 30 jours. Aucune trace de gonade n'a pu être décelée à l'examen microscopique. Les modifications des autres organes ont été conformes aux indications de Podhradsky et de Hertwig.

Les gonades n'ont pu être décelées que chez des têtards soumis à une famine intermittente (nutrition toutes les deux semaines). Des têtards nourris normalement servaient de témoins. Les animaux ont été fixés au 78e jour de leur développement. A ce moment, certains des individus parmi les témoins possédaient déjà leurs extrémités antérieures et commençaient à perdre la queue, tandis que chez les têtards en expérience aucun ne possédait encore d'extrémité postérieure. Sur un total de 10 têtards d'expérience et de 10 têtards témoins, la longueur de la partie génitale des gonades variait de 360 à 600 pour les têtards normaux et de 160 à 320 pour les têtards d'expérience. Le nombre des gonocytes renfermés dans une coupe transversale passant par l'endroit le plus large de la partie génitale de la gonade était de 18 à 35 pour les têtards normaux et de 5 à 16 pour les têtards d'expérience. Dans les cas où la gonade est le plus réduite, on assiste à une dégénérescence du noyau — formes irrégulières, division en trois ou quatre noyaux plus petits. Cette dégénérescence de la partie génitale progresse en avant et de la périphérie au centre. Les gonocytes placés au centre même de la gonade résistent le plus longtemps. Il n'a été constaté aucune modification dans la structure de la partie postérieure de la gonade. Les éléments de la gonade autres que les gonocytes restent des cellules tout à fait normales. Le nombre des cordons génitaux oscille entre 2 à 3, comme chez les têtards habituels. Ainsi les éléments somatiques de la gonade résistent à l'influence de la famine.

De ces constatations, il résulte donc contrairement aux assertions de Nussbaum, contrairement à celles de Barfurth, mais conformément aux idées de Kopec, que la famine est un agent de retard et de régression pour le développement de la gonade chez les larves d'Amphibiens.

Dustin, en 1919, a montré que le jeûne provoquait l'apparition précoce des mitoses thymiques qu'il a appelé « élassotiques » avec pycnose consécutive rapide et atrophie considérable de l'organe.

On trouvera exposée plus loin, l'influence des microorganismes sur le développement des têtards soumis à l'inanition.

Absorption et assimilation

Hykes, en 1922, a montré que le *sucre* pouvait être absorbé par la peau des têtards. Plusieurs auteurs ont constaté le même phénomène chez d'autres animaux aquatiques, non seulement pour le sucre, mais aussi pour d'autres substances. C'est en se basant sur ces faits, que Krizenecky et ses collaborateurs ont établi la théorie de l'utilisation par les animaux aquatiques, des substances dissoutes dans l'eau. G. Ranson (1927), a admis ce point de vue pour tous les organismes aquatiques depuis les Protozoaires jusqu'aux Poissons.

En 1928, Hykes a recherché si les *émulsions de matières grasses* pouvaient aussi être absorbées par la surface extérieure du corps chez la Grenouille. Il a constaté que, non seulement les substances solubles, mais aussi les lipides en émulsion, pouvaient être absorbés par la peau de la Grenouille ou des Têtards.

D'après Chomokowic également la peau des têtards serait perméable aux différents éléments nutritifs en solution, en particulier les sucres et les *peptones*.

Podhradsky (1928), a examiné si l'on peut renforcer ou diminuer l'utilisation de ces éléments par l'augmentation ou la réduction de la perméabilité cutanée. Il a utilisé le potassium comme agent stimulant et le calcium comme agent inhibiteur. Ces deux métaux étaient sous formes de chlorures : ClK et Cl^2Ca.

Les expériences ont été poursuivies sur quatre groupes de têtards : un groupe normal, un groupe inanitié, un groupe recevant de la « biocleïne » (1 g. dans 15 cm^3 d'eau) et un groupe recevant de la peptone (0,5 g.) et du saccharose (0,5 g.). Chaque groupe a été divisé en quatre séries : la première sans supplément, la seconde recevant une addition de ClK (10 cm^3 d'une solution à 20 p. 100), la troisième une addition de Cl^2Ca (10 cm^3 d'une solution à 58,76 p. 100) et la quatrième une addition de ClK (10 cm^3 à 20 p. 100) et de Cl^2Ca (10 cm^3 à 58,76 p. 100). La croissance en longueur et l'augmentation de poids vifs ont

été déterminées de façon périodique et, en fin d'expérience, le poids de matière sèche.

Les résultats de ces expériences ont été les suivants : le calcium agit dans le groupe saccharoso-peptoné de façon défavorable sur l'allongement du corps, l'augmentation de poids vif et de matière sèche. Cet effet défavorable est encore plus marqué dans le groupe recevant de la biocleïne.

Le potassium agit de façon favorable sur le groupe saccharoso-peptoné où l'augmentation relative de matière sèche par rapport aux témoins est considérable. Dans le groupe à la biocleïne, l'action du potassium sur la croissance est défavorable probablement à cause de la grande quantité de potasse contenue dans la biocleïne (30,41 p. 100 des cendres). L'absence de saccharose comme facteur de désintoxication vis-à-vis du potassium joue aussi un rôle important. Le saccharose ne peut être remplacé dans ses propriétés antitoxiques ni par le maltose, ni par le dextrose qui se trouvent dans la biocleïne.

Les deux ions, K et Ca, administrés simultanément agissent de façon moins défavorable que le calcium administré seul.

Il résulte donc de l'ensemble de ces expériences que par l'augmentation de la perméabilité de la peau, la croissance peut être accrue dans le cas où le potassium ne peut pas exercer son effet toxique (groupe saccharoso-peptoné). Quand cet effet peut se produire (groupe de la biocleïne), l'augmentation de la perméabilité (et par conséquent la meilleure utilisation des éléments nutritifs), est dissimulée par la prédominance de l'effet toxique. La *réduction de la perméabilité cutanée a pour conséquence une réduction de la croissance* en longueur, celle du poids vif et celle du poids de matière sèche.

Dodel et Dastugue, en 1936, ont entrepris des expériences du même genre avec *l'urée*, *le glucose* et *l'acide butyrique*. Une série d'investigations préliminaires leur avait montré que des solutions d'urée et de glucose de 1 p. 10.000 à 1 p. 1.000 et d'acide butyrique de 1 p. 100.000 à 1 p. 50.000, constituaient des milieux ou les têtards peuvent vivre normalement.

Les larves sont disposées par groupe de dix dans des récipients identiques, renfermant 500 cm^3 d'eau de conduite à pH 6,9. Cette eau et l'alimentation sont renouvelées tous les jours. Le premier lot soumis à l'inanition baigne dans l'eau pure; le second est nourri avec du jaune d'œuf desséché ; le troisième correspond à une solution de glucose et d'urée à 1 p. 100.00 ; le quatrième à une solution d'urée à 1 p. 10.000 avec acide

butyrique à 1 p. 100.000 ; le cinquième comprend glucose à 1 p. 10.000, urée à 1 p. 10.000 et acide butyrique à 1 p. 100.000 ; le sixième, glucose, urée, acide butyrique et de petites quantités de carotène et d'acide ascorbique. Les lots sont pesés tous les quatre jours. En ramenant le poids initial de chacun d'eux à 1.000, on obtient les résultats groupés dans le tableau suivant :

Lot	Ration alimentaire	13 avril	17 avril	21 avril	25 avril	29 avril	4 mai	7 mai
I	Eau de ville pure.	1.000	872	764	755	690	650	647
II	Jaune d'œuf.	1.000	1.231	1.394	1.564	1.625	1.725	1.744
III	Glucose et urée ..	1.000	910	968	978	924	889	849
IV	Urée et acide butyrique	1.000	864	819	804	774	787	738
V	Glucose, urée et acide butyrique	1.000	910	1.062	1.053	1.019	960	1.010
VI	Glucose, urée, acide butyrique, carotène et acide ascorbique	1.000	905	931	914	846	833	855

L'examen de ces chiffres montre que le premier lot (eau de ville pure), a subi une décroissance pondérale continue du 13 avril, date de la mise en expérience, au 7 mai, date à partir de laquelle les morts par inanition obligent à interrompre les mesures.

Dans le même temps, le deuxième lot (eau de ville, plus jaune d'œuf) a augmenté régulièrement de poids. Parmi les autres lots, une distinction est à faire entre IV, d'une part, III, V et VI, d'autre part.

Pour le nº IV (urée et acide butyrique) la variation a été également continue. Elle s'est effectuée dans un sens strictement parallèle à celle du premier lot, tout en se maintenant à un taux toujours supérieur.

Pour les nº III (glucose et urée), V (glucose, urée et acide butyrique) et VI (glucose, urée, acide butyrique, carotène et acide ascorbique), au contraire, les variations sont loin d'être univoques.

Ces trois lots accusent une baisse importante du 13 au 17 avril, puis un accroissement du 17 au 21. Or, on constate dans le même temps que, bien que changé tous les jours, le contenu des bocaux correspondants est trouble et qu'un dépôt gras,

blanchâtre, recouvre les parois. A partir de ce jour, les bocaux ont été lavés quotidiennement à la lessive de soude, et d'autre part, le glucose et l'urée ajoutés jusque-là à l'aide d'une solution mère, l'ont été sous forme solide (5 ctg. pour chaque lot). Enfin, les bocaux sont maintenus à l'abri des poussières du laboratoire.

Malgré ces précautions destinées à éviter dans la mesure du possible les phénomènes d'ordre bactérien, et qui ont été prises pour les six lots, l'allure de la courbe n'a pas été modifiée pour I, II et IV.

Par contre, III, V et VI ont commencé à décroître.

Mais cette chute a été très inférieure à celle qui s'est produite dans l'eau de ville pure, à tel point qu'en fin d'expérience, le 7 mai, le cinquième lot avait un poids sensiblement identique à celui de la mise en train du 13 avril.

En terminant, les auteurs se demandent si les processus bactériens ont été véritablement arrêtés dans les lots renfermant du glucose et envisagent de reprendre leurs expériences dans des conditions d'asepsie rigoureuses.

Elevages septiques et aseptiques

En réalité, la question posée par Dodel et Dastugue, à la fin de leur travail avait déjà été nécessairement envisagée par les auteurs qui s'étaient également occupés de l'utilisation des substances organiques par les larves de Batraciens.

Podhradsky, dont nous avons relaté plus haut les expériences, avait examiné de très près la flore bactérienne développée dans chaque lot de têtards, et en avait déduit que les résultats obtenus étaient entièrement indépendants du nombre de bactéries contenues dans les solutions nutritives.

Le même auteur, en collaboration avec Krizenecky, affirmait encore que les microbes ne jouaient pas la fonction d'intermédiaire entre l'organisme animal et la solution nutritive. Les bactéries ne sont pas utilisées par les têtards au point de vue nutritif. Les têtards nourris avec des bactéries sont inanitiés comme s'ils étaient maintenus dans de l'eau pure.

Nous sommes donc amenés à envisager la question de l'élevage aseptique des têtards.

M^me^ Metchnikoff (1900), et plus tard Moro, ont vu que les têtards se développaient moins bien en milieu aseptique que ceux élevés en présence de microbes. C'est ainsi que dans

les expériences de Mme Metchnikoff, la taille moyenne des têtards aseptiques était de 15,5 mm., leur poids variant de 20 à 35 mg. Le poids moyen des têtards témoins était de 142 mg., leur taille moyenne de 26,5 mm.

D'après Wollmann (1911), au contraire, les têtards aseptiques, placés dans des conditions favorables, se développent aussi bien que les têtards normaux et cet auteur a pu obtenir des têtards aseptiques dont la longueur à l'âge d'un mois atteignait de 32 à 40 mm. et dont les extrémités postérieures étaient, à ce moment, normalement développées.

Il devenait donc intéressant de savoir si les microbes pouvaient constituer, dans certains conditions expérimentales tout au moins, un appoint à l'alimentation des têtards.

Wollmann (1915), entreprit à ce sujet, les expériences suivantes. Des têtards de Grenouille rousse étaient distribués dans un certain nombre de boîtes de Pietri, à raison de quinze têtards environ par boîte. Une partie de ces têtards étaient nourris de pain ou d'un mélange de viande, d'œufs, de fromage ou de têtards morts ; une autre partie recevait une alimentation exclusivement microbienne : bacilles typhiques agglutinés par du sérum antityphique et chauffés, microbes d'eau vivants, colibacilles vivants, *bacillus subtilis* vivants, la dernière partie était laissée à jeun. A l'âge de 3 semaines, les têtards des différentes séries ont été pesés et mesurés :

Têtards au régime viande, œuf, fromage.	longueur	17 à 21,5 mm.
	poids moyen	46 mg.
Têtards au pain.	poids moyen	46 mg.
Têtards nourris de têtards morts. ..	poids moyen	53 mg.
Têtards nourris de bac. typhiques tués.	longueur	14 à 20 mm.
	poids moyen	45 mg.
Têtards nourris de microbes d'eau vivants.	poids moyen	50 mg.
Têtards soumis à l'inanition	longueur	13 à 16 mm.
	poids moyen	20,6 mg.

Les têtards nourris au colibacille vivant sont tous morts dès les premiers jours de l'expérience.

Un certain nombre de têtards n'ayant reçu pendant trois semaines aucune nourriture, ont été alimentés ensuite de bacilles *subtilis* vivants ; une semaine plus tard, le poids moyen de ces

têtards était de 24 mg., deux semaines plus tard, de 31 mg. ; celui des têtards laissés à jeun était tombé à 17 mg.

Malheureusement ces résultats ne sont pas purs, en ce sens que les différentes séries de têtards soumis aux divers régimes (pain, etc.), pouvaient s'alimenter également des microbes qui étaient très abondants dans l'eau des petits récipients, malgré un renouvellement fréquent. Ce phénomène se retrouvait encore jusqu'à un certain point pour les têtards à jeun et il eût été intéressant d'opérer avec des élevages aseptiques.

Néanmoins, les résultats obtenus semblent assez probants à leurs auteurs pour en conclure de façon certaine que les têtards peuvent parfaitement utiliser les bactéries pour leur alimentation.

On remarquera qu'on aboutit de la sorte à un point de vue totalement opposé à celui précédemment exprimé de Podhradsky. Billard avait également envisagé l'action des microorganismes (bactéries et algues vertes microscopiques) sur le développement des têtards. On trouvera plus loin l'exposé de ses résultats.

Protides, glucides lipides

Quelques auteurs se sont préoccupés de l'action des *acides aminés* sur le développement des larves de Batraciens.

Pour Abderhalden et Hartmann (1927), Schwaibold (1928), la tyrosine est douée d'une faible activité sur les têtards de Grenouille. Elle est inactive ou très peu active sur l'Axolotl de 10 à 20 g. (Zavadowsky, Titajev, Perlmutter et Raspopowa). Le tryptophane est inactif ou très peu actif sur l'Axolotl de 10 à 20 g. La tyramine, amine de décarboxylation de la tyroxine, est active sur le têtard (Abelin, 1920). La l-cystine est inactive (Abderhalden et Hartmann). La lysine est indispensable. La croissance des animaux sans lysine étant identique à celle des témoins soumis au jeûne total. (Champy et Gley, 1923).

Gudernatsch et Hoffmann (1931), ont alimenté des têtards de *Rana sylvatica* et de *Rana pipiens* avec des acides aminés à partir du huitième jour après leur naissance. Les divers acides utilisés ont eu des effets variables sur la conservation de l'existence et sur la croissance. La lysine favorise la croissance mais non la conservation de l'existence. Le tryptophane est mauvais pour l'une et pour l'autre. Au point de vue différenciation

il n'a pas été possible de dépasser le stade des membres postérieurs. La diiodotyrosine accélère la différenciation qui, par contre, est inhibée par l'arginine. Un acide seul s'est montré tout à fait insuffisant. Un mélange d'acides s'est montré supérieur sans cependant permettre de satisfaire aux besoins azotés.

D'après Sylven (1933), la cystine possède la propriété d'accélérer de façon marquée la croissance des têtards. Avec la cystéine on n'assiste pas au même phénomène. En ce qui concerne l'auxine, les résultats ne sont pas certains.

Perichanjanz et Sudzilowskapa (1936), ont signalé une accélération de la croissance par le phosphore organique et le glucose chez les têtards de *Rana temporaria*.

Dans tous les autres cas, il s'agissait d'aliments d'origine végétale ou animale et non de substances chimiquement définies.

Nous avons pu nous-mêmes, au cours d'expériences multiples et de longue durée, nous rendre compte que le *jaune d'œuf de Poule* desséché constituait une alimentation capable d'assurer aux têtards une croissance régulière.

Dustin (1919), a indiqué qu'une alimentation surabondante au moyen de *Thymus* d'agneau, donnait naissance à des ébauches thymiques très volumineuses dont les noyaux sont de tailles beaucoup plus considérables que ceux des larves témoins : les noyaux des cartilages, des muscles, etc..., gardent au contraire, la même taille chez toutes les larves. De plus, ces noyaux thymiques subissent les mitoses « élassotiques », plus tardivement qu'à l'état normal.

L'influence de la *Gélatine*, du *Tapioca* et de la *Glutine* a été recherché par Polimanti (1931). Cet auteur a observé que la glutine accélérait la métamorphose alors que le tapioca la retardait et que la gélatine faisait rapidement mourir un grand nombre de têtards.

Nous ferons une place particulière aux expériences que Billard avait entreprises en 1919, sur les larves de Batraciens dans le but de confirmer les résultats obtenus par Busquet chez la Grenouille au sujet de la valeur nutritive des *Albumines Etrangères* et des *Albumines Spécifiques*.

Busquet avait, en effet, montré que : 1° chez la Grenouille, la ration d'entretien se réalise avec un apport d'albumine plus faible par ingestion de viande de Grenouille que par ingestion de viande de Veau ou de Mouton. 2° chez des Grenouilles inanitiées au préalable, une augmentation pondérale déterminée

s'obtient avec un apport d'albumine moindre par ingestion d'une chaire spécifique que par ingestion de viandes étrangères.

Billard élève de jeunes têtards de Grenouille dans quatre bacs différents. Ceux du quatrième bac ne sont pas nourris et vivent par conséquent dans l'eau pure. Ceux du troisième reçoivent une alimentation végétale (algues vertes : *Scenedesmus, Quadricauda, Scenedesmus obliquus, Raphidium elongatum)*. Dans le deuxième bac, l'alimentation est composée de foie de Veau haché et de foie de Grenouille dans le premier.

Au bout de 24 jours, le poids moyen d'un têtard dans les divers bacs était le suivant : n° 1, 0,37 g. ; n° 2, 0.31 ; n° 3, 0.10 ; n° 4, 0.07. A la même date, les têtards n° 1 possédaient leurs quatre pattes et commençaient à perdre la forme globuleuse de la période larvaire. Les têtards n° 2 présentaient les pattes postérieures et avaient conservé leur forme globuleuse ; quant aux autres, ils présentaient un retard très considérable, voire même une regression pour les têtards n° 4. Et Billard de conclure :

« Chez les larves de Grenouilles, l'accroissement et une augmentation déterminée de poids s'obtiennent avec un apport d'albumine moindre par ingestion d'albumines spécifiques que par ingestion d'albumines étrangères. »

Régimes complexes

Nous avons vu plus haut que certains auteurs comme Wollmann, avaient employé des régimes relativement complexes : mélanges de viandes, œuf, fromage, etc., Carnot (1926), a indiqué une association de grains de semoules et de feuilles vertes (plantes aquatiques, vigne vierge, menthe), qui donne lieu à un développement restreint et retardé et dont il préconisait l'emploi dans les recherches relatives aux facteurs de croissance chez les têtards. Mais nous voulons surtout faire allusion ici aux importantes expériences entreprises par Billard en 1920 et que nous résumons de la façon suivante :

Disons, tout d'abord, qu'il s'agissait de têtards de *Rana esculenta* et que l'eau et l'alimentation étaient renouvelées tous les jours, au maximum tous les deux jours. Ce dernier point est d'importance d'une part en ce qui concerne la santé des larves, d'autre part, le développement d'algues vertes (notamment du genre *Scenedesmus*), dont la multiplication est susceptible comme on le verra plus loin, de fausser le résultat des épreuves.

Dans ces conditions, les larves ont été soumises à des régimes variés : soit végétariens, soit carnés.

Régimes Végétariens. — 1° Alimentation avec graines entières concassées de Légumineuses : fèves des marais, pois, lentilles, métamorphose complète en neuf semaines.

Haricots : mort en sept jours. Les têtards paraissent particulièrement sensibles aux principes toxiques (cyanure), que peut renfermer cette légumineuse.

2° Alimentation avec graines concassées de céréales : blé, orge, seigle ; métamorphose complète en neuf semaines, aussi rapide qu'avec les légumineuses.

Avoine : mort en neuf jours. Ces graines renferment donc des substances toxiques pour les têtards.

3° Alimentation avec graines décortiquées et farines blutées à divers titres. Avec un blutage de 80%, les larves poussent des rudiments de pattes postérieures, grossissent, mais ne se métamorphosent pas. Avec la farine de maïs, elles deviennent relativement énormes sans se transformer. Avec l'amidon de blé ou de riz, elles restent dans le *statu quo* sans changer de poids ni de volume.

Régimes Carnés. — C'est avec les albumines spécifiques que la métamorphose est la plus rapide (huit semaines) ; presque aussi précoce avec le jaune d'œuf ; mais en neuf semaines seulement avec les muscles de Veau ou de Mouton. Les divers régimes composés avec le blanc d'œuf ont été :

1° Albumine d'œuf cuit : mort en un mois environ.

2° Albumine d'œuf et graisse de Bœuf. Les larves restent vives et agiles mais se développent très lentement.

3° Albumine d'œuf et amidon de blé : développement très lent. A la fin de la deuxième semaine on note des troubles d'incoordination motrice se traduisant par des mouvements giratoires, de véritables loopings. Les têtards reposent parfois sur le fond du vase indifféremment sur le dos, sur le flanc ou à demi tordus dans un angle. Bientôt ils se déforment et leur appendice caudal présente des coudures en baïonnette. Billard considère que ce syndrome est à rapprocher du beri-beri dans sa première phase puis, ensuite, du rachitisme.

4° Albumine d'œuf, graisse de Bœuf et amidon. En une quinzaine de jours, les têtards deviennent hydropiques. Leur ventre se distend comme un ballon. Le péritoine (noir de chromo-

blastes), éclate et l'on aperçoit à travers la peau transparente, les intestins et les viscères abdominaux. Après un nouvel intervalle de quelques jours, la peau elle-même éclate et la mort survient. Billard rapproche ce syndrome des affections hydropiques par carence alimentaire et du gros ventre de certains enfants nourris avec des soupes grasses.

Etude critique des résultats. — On a vu les larves évoluer et se métamorphoser *avec les graines entières de céréales et de légumineuses* ; moins vite, il est vrai qu'avec les protides spécifiques (muscles et foie de Grenouille). Le retard a été d'environ dix jours. Ce retard, la moindre valeur du poids et de la taille chez les larves végétariennes montrent nettement une assimilation plus facile des protides spécifiques. Mais la métamorphose complète, dans l'un et l'autre cas, prouve cependant que le régime végétarien pratiqué a pu former les acides aminés indispensables. Enfin, l'impuissance des graines décortiquées à assurer le développement des têtards fait soupçonner l'existence de principes de croissance dans l'enveloppe du germe.

Avec l'albumine seule, les têtards se développent très lentement et meurent environ au bout d'un mois. Si on ne renouvelle pas l'eau et qu'on ensemence d'algues vertes, celles-ci croissent d'abord avec une grande difficulté, mais dès que la culture, après trois semaines à peu près, commence à être prospère, on s'aperçoit que les têtards ne meurent plus. Le fait que les algues ne se cultivent qu'avec peine est interprété par Billard comme paraissant indiquer que les produits de dislocation des protides sont peu abondants dans les déchets des larves et que par suite celles-ci digèrent faiblement les aliments qui leur sont fournis. Dès que le développement de la culture d'algues s'est affirmé, les têtards ne sont plus intoxiqués. On peut les alimenter largement d'albumine ; ils en absorbent mais ne grossissent pas de façon sensible et ne dépassent pas la moitié de la taille moyenne larvaire avant la métamorphose. *Avec albumine et graisse*, aucun trouble apparent ne se manifeste dans l'évolution des larves, sauf une lenteur considérable de l'accroissement. Fait intéressant à signaler, les cultures d'algues évoluent assez rapidement et deviennent prospères en une semaine ; ce qui témoigne, d'après Billard, d'une utilisation meilleure et assez importante des albumines en présence des graisses. De plus, avec le temps, les larves ont fini par évoluer et après douze semaines se sont métamor-

phosées. Il ne paraît donc pas douteux à Billard que par la « symbiose » de l'animal avec les flores bactérienne et chlorophyllienne, un élément nouveau ait été créé et que cet élément ait joué le rôle de facteur de croissance. Billard insiste sur ce mot : *symbiose*, car, dit-il, le têtard meurt dans l'eau non renouvelée en présence des bactéries qui disloquent les substances protéiques jusqu'au stade des nitrites, nitrates et composés ammoniacaux toxiques pour l'animal ; d'autre part, si l'animal meurt, la culture d'algues qui donnait à l'eau une belle coloration verte, ne tarde pas à tomber au fond du vase.

L'amidon seul, bien qu'ingéré, n'est pas utilisé par les larves ou du moins, aucun changement de forme ou de volume ne permet de le supposer. Associé à l'albumine, il détermine un certain nombre de phénomènes pathologiques que Billard classe en troubles nerveux et en troubles de la nutrition proprement dits.

Après une quinzaine de jours du régime alimentaire *albumine-amidon* qui entraîne une augmentation très faible de la croissance, les larves manifestent une incoordination motrice singulière : tantôt elles font une série de tête à queue en décrivant de véritables loopings, tantôt elles nagent sur le dos et tombent dans le fond du bocal dans les positions les plus anormales. A cette première phase font suite des troubles de la nutrition proprement dits qui se manifestent par des déformations particulières de l'appendice caudal : tantôt cet appendice s'infléchit dans le sens dorso-ventral, donnant à l'animal l'aspect d'un gibbeux, tantôt il s'incurve dans le sens latéral en un ou deux angles, en forme de baïonnette ; de plus, il acquiert une longueur démesurée. Tandis que chez l'animal normal la longueur de la queue est égale à une fois et demi ou deux fois la longueur du corps globuleux, elle atteint ici trois fois et plus la longueur du corps. Les larves de cette série présentent une pigmentation beaucoup plus marquée que celle des larves normales. Billard incline à faire rentrer ces manifestations pathologiques dans le cadre du rachitisme et il indique que si l'adjonction au régime, de poudre d'os calcinés reste inopérante, le son de blé, au contraire, amène la guérison. Enfin Billard a essayé d'apporter dans ce milieu l'élément nouveau qui lui avait réussi ailleurs, mais cette fois les algues ne se développent pas et elles ne se développent pas davantage du reste dans les bacs des lots nourris avec de la farine.

Avec albumine, amidon et graisse, on assiste, au bout d'une quinzaine de jours, à une hydropisie de l'animal. Les têtards deviennent hydropiques à un point tel que leur péritoine éclate laissant voir, à travers la peau distendue, les viscères qui ont l'air de flotter dans du liquide ; puis, quatre ou cinq jours plus tard, la peau elle-même éclate et la mort survient. Billard pense qu'il s'agit bien de l'hydropisie et non de météorisme, car dans ce dernier cas les animaux flotteraient à la surface, alors qu'ils se meuvent dans l'eau très librement. Ces phénomènes, ajoute Billard, seraient peut-être à rapprocher du syndrome béribérique. Ici encore, l'auteur a essayé de modifier la constitution du milieu par adjonction de culture d'algues. Celles-ci se développent assez bien et leur présence suffit à atténuer de façon très considérable, sans les empêcher totalement, les phénomènes que nous venons de décrire.

Abderhalden a également étudié l'influence de diverses substances alimentaires sur la croissance et le développement des têtards. Les aliments étudiés étaient fournis quotidiennement pendant quelques semaines (trois en moyenne). Les résultats sont résumés dans le tableau ci-joint :

Aliments	Action sur	
	la métamorphose	la croissance
Pain (azyme ou levé de seigle, de froment ou d'orge).....	Légère accélération	+
Cerveau de Cobaye.....	Légère accélération	+
Lait cru (1).....	Légère accélération	+
Lait cuit pendant 2 heures ..	Moins actif que le lait cru	Moins actif que le lait cru
Levures hautes	Légère accélération	+
Levures basses.....	Moins actives que les levures hautes	Moins actives que les levures hautes
Son de riz.....	Légère accélération	+

L'action sur la croissance est plus manifeste que l'action sur la métamorphose. En outre, des troubles de développement, chez les animaux ainsi nourris (déviations, caudales, dorsales, etc.), sont fréquentes.

(1) Phénomène confirmé par Schwaibold (1928) qui a également constaté que l'administration d'iodure augmente l'activité du lait secrété.

Morse (1914) a constaté que les algues, qui contiennent naturellement de l'iode n'ont pas d'action. Emmet et Allen (1919), ont tenté de réaliser une alimentation artificielle et ont constaté que la présence d'une grande quantité de graisse inhibe la taille et le développement, et que la qualité des matières protéiques intervient aussi. Champy et P. Gley (1923), ont insisté sur le rôle indispensable de la lysine dans le développement du têtard.

En résumé, les conditions strictes de l'alimentation des têtards dans leur rapport avec le développement et la métamorphose ne sont pas encore établies de façon définitive.

Vitamines

Les expériences de Billard que nous venons de rapporter, ainsi que celles de Emmet, Allen et Sturtewant (1920), Harden et Zilva (1920), ont été critiquées par Champy et Gley (1923), dans la mesure où elles tendaient à établir l'influence des vitamines sur la croissance des têtards.

D'après Champy et Gley, cette influence, en effet, serait nulle. Des lots de 50 têtards de *Rana temporaria* provenant de la même ponte, ont été nourris : 1° au riz décortiqué cuit à l'autoclave ; 2° au pain séché après pulvérisation à 120°, puis épuisé à l'alcool absolu.

L'expérience débute avant qu'il y ait trace d'ébauches des membres postérieurs et se poursuit de 40 à 70 jours. Les animaux croissent presque aussi vite que les témoins nourris à la salade et se métamorphosent normalement. La thyroïdisation garde son influence habituelle aux doses accoutumées.

Dans une deuxième série d'expériences le riz poli (récemment cuit), n'a été laissé qu'une heure dans le bac des têtards, afin d'éviter toute production de facteurs hydrosolubles. La croissance des têtards a été cependant presque identique à celle des témoins nourris à la salade.

Dans une troisième série d'expériences, les têtards nourris avec de l'amidon et de l'ovalbumine cuite, donc sans vitamines, ont présenté, en peu de temps, les accidents déjà décrits par Billard. Ces accidents sont guéris par l'addition de jaune d'œuf qui pourrait être interprétée comme un apport de vitamines. Or, il n'en est rien, car la guérison peut être également

obtenue par l'addition de phytine synthétique, donc un produit riche en phosphore, mais de teneur en vitamines nulle.

En d'autres termes, Champy et Gley ont bien reproduit à l'aide de régimes analogues les accidents déjà décrits par d'autres auteurs et notamment par Billard, mais ils les interprètent comme des manifestations de carence phosphorée et non vitaminique.

Dastugue et Thonier (1941), ont signalé l'influence défavorable exercée par l'acide ascorbique à 1 pour 100.000 tant sur la croissance pondérale (examinée avant la métamorphose), que la croissance morphogène.

Aliments irradiés

Kucera et Soos (1933) pensent avoir été les premiers auteurs qui aient employé les têtards pour le titrage biologique du lait irradié.

Ils ont essayé quatre types de lait : *A*) le lait de la chèvre normale non irradiée ; *B*) le lait de la chèvre irradiée dans la région du pis pendant 3, 6, 12 et 24 minutes par la lampe à mercure ; *C*) le lait de la chèvre privée de la glande thyroïde et non irradiée ; *D*) le lait de la même chèvre soumise auparavant à la même irradiation que dans le cas B. L'alimentation basale des têtards était composé de pain séché à la température de 140°, de viande séchée, d'amidon de froment et de caséine ; ce régime était donné également à un groupe de contrôle. A cette alimentation basale, on a ajouté pour les groupes d'expérience, le lait examiné séché. En dehors de cela, on a eu un groupe de contrôle soumis à l'alimentation verte. Les têtards provenant de la même ponte ont été répartis par 50 individus dans trente-deux aquariums. On changeait l'eau et on alimentait les sujets chaque jour. Les observations ont porté sur : le poids des têtards, le début, l'évolution et la fin de la métamorphose. Le développement et la métamorphose étaient les plus rapides chez les têtards de contrôle soumis au régime vert. Dans toutes les séries de têtards auxquels on a donné avec la nourriture du lait sec, on a observé un ralentissement du développement. Avec le lait provenant de l'animal normal, l'influence défavorable était la moins accentuée ; cette influence défavorable était la plus prononcée avec le lait provenant de la chèvre privée de la glande thyroïde et non irradiée. Le lait des deux chèvres prélevé après l'irradiation perdait une partie de son influence

défavorable sur le développement. L'irradiation du pis avait donc une influence indirecte (par l'intermédiaire du lait), favorable au développement des têtards. Relativement, le meilleur développement était observé sous l'influence du lait recueilli après l'irradiation durant douze minutes. Par l'examen histologique de la glande thyroïde des têtards de contrôle soumis au régime végétal, l'on a établi la grandeur normale de cette glande, qui présente de grandes vacuoles remplies de colloïde. Chez les têtards, dont la nourriture était additionnée du lait provenant de la chèvre thyréoprive (lait C), on a trouvé une très petite glande thyroïde. Chez ceux nourris par du lait de la chèvre normale, la glande thyroïde avait une grosseur à peu près moyenne entre les deux cas précédents. Se basant sur le degré du développement de la glande thyroïde et sur l'image histologique qu'offrait cette glande chez les têtards nourris avec le lait provenant de la chèvre thyréoprive irradiée, on peut dire que ce lait était certainement moins efficace que le lait de la chèvre thyréoprive non irradiée. On en déduit que l'influence de l'irradiation est en relation avec la fonction de la glande thyroïde.

Andrick et Kucera ont poursuivi la même année, des recherches de même ordre au cours desquelles les têtards servaient encore de test biologique. Il s'agissait de lait provenant de chèvres thyréoprives, dont le pis était irradié pendant un temps variable, de 6, 12 et 24 minutes, puis en diminuant de nouveau, de 12 et de 6 minutes. La distance de la lampe était toujours la même : 60 cm. D'autre part, une dose journalière de 40 mg. d'iodure de potassium fut injectée sous la peau du même animal. La ration des têtards était constituée par : une partie de pain séché, une partie d'amidon et une partie de viande séchée. A cette ration basale on ajoutait une partie du lait examiné séché. On avait une série de contrôle qui recevait seulement la ration basale susdite et une autre qui était soumise au régime végétal. On a employé des têtards âgés de 5 semaines, provenant de la même ponte. L'expérience durait 56 jours et l'eau des bocaux était changée chaque jour. L'expérience fut faite sur vingt-trois séries et on a suivi l'influence du lait examiné sur le poids, sur la métamorphose et sur la glande thyroïde des têtards.

En général, on a observé une influence défavorable du lait sur les têtards, qui se manifestait par l'inhibition de la croissance et le ralentissement de la métamorphose. Une influence

relativement favorable sur le développement avait été observée pour le lait provenant du pis irradié, mais cela seulement par rapport au lait provenant du même animal non irradié. La durée optimale de l'irradiation peut être évaluée à 24 minutes. Le lait provenant de l'animal ioduré avait une influence plus favorable sur les têtards que le lait de l'animal non ioduré ; cette influence favorable se manifestait par le fait que les têtards ont atteint sous son influence la grandeur de ceux qui étaient soumis au régime végétal.

La glande thyroïde des têtards nourris avec du lait provenant de l'animal non irradié, était mal développée et la colloïde s'y colorait difficilement. Ce fait a été aussi observé par Soos. La colloïde était ici nettement plus grande. La glande thyroïde des têtards nourris avec du lait provenant de l'animal ioduré montrait la même structure que la glande des têtards normaux.

Se basant sur les résultats de ces expériences, les auteurs supposent que l'irradiation du pis, et plus encore l'injection d'iodure de potassium, influencent favorablement la formation des matières à action spécifique sur le développement de la glande thyroïde des têtards. Ils pensent que l'irradiation agit par l'intermédiaire de la vitamine D renfermée dans le lait après l'irradiation, cette dernière ayant vraiment une influence favorable sur la valeur biologique du lait. L'influence de l'iodure de potassium administré à la chèvre thyréoprive peut, en partie, être expliquée par la compensation du manque d'hormone thyroïdienne au moyen de l'iode.

CHAPITRE V

FACTEURS ENDOCRINIENS : LA THYROIDE

Effets de la thyroïdectomie, Administration de thyroïde aux larves d'Anoures, Larves d'Urodeles, Larves d'Urodeles perennibranches

Depuis que GUDERNATSCH, en 1912, a décrit l'action pharmacodynamique de différents tissus endocriniens sur la métamorphose et sur la croissance des Batraciens Anoures, de très nombreux travaux ont été effectués sur le même sujet. Citons parmi les plus importants, ceux de COTRONEI, de KAHN, de ROMEIS, d'ABDERHALDEN et son école, D'UHLENHUTH, etc...

L'expérimentation a été étendue à la métamorphose des Batraciens Urodeles : Tritons, Salamandres et Axolotls (GUDERNATSCH, BABAK, LAUFBERGER, JENSEN, ABELIN, ROMEIS, ZAWADOWSKY et son école, etc...), et à celle d'Urodéles Pérennibranches *(Necturus maculatus)* (JENSEN, HUXLEY et HOGBEN, SWINGLE, ALLEN).

Effets de la thyroïdectomie sur le développement et sur la métamorphose des têtards

Des travaux d'ALLEN, TERRY, ROGERS sur *Rana pipiens*, de KAHN sur *Rana temporaria*, de HOSKINS et HOSKINS, de SCHULZE sur *R. Sylvatica*, il résulte que la thyroïdectomie entraîne chez le têtard les modifications suivantes :

1° Suppression de la métamorphose ;

2° Développement exagéré de la taille ;

3° Retard de l'ossification enchondrale et périostée ;

4° Ralentissement du développement de l'encéphale ;

5° Hypertrophie de l'antéhypophyse ;

6° Retard de l'involution du thymus ;

7° Absence du développement des oviductes.

Ces modifications sont parallèles à celles qui se constatent chez les jeunes Mammifères éthyroïdés. Elles touchent surtout le soma et très peu le germen.

Notons encore qu'on a parfois observé un certain degré d'acromegalie qui a été interprété comme la résultante d'une hypertrophie compensatrice de l'hypophyse (Hoskins) et que si la thyroïdectomie a été pratiquée au début de la métamorphose, celle-ci s'achève malgré l'absence de la glande (Margaret Hoskins).

Enfin, l'influence de la thyroïdectomie sur le pouvoir de régénération des têtards de Grenouille reste discutée (Walter. 1911).

Effets de l'administration de substance thyroïdienne sur le développement et sur la métamorphose des larves d'Anoures

Gudernatsch observa le premier l'effet particulier, rapide et intense de l'ingestion de la substance thyroïdienne sur le développement des têtards d'Anoures. Les conditions expérimentales choisies par cet expérimentateur, lors de ses premiers travaux effectués à Prague pendant l'été de l'année 1911, sont les suivantes :

Des têtards de *Rana temporaria* ou de *Rana esculenta* sont placés par lots de 15 à 20 individus dans des récipients contenant de l'eau ordinaire. Trois ou quatre fois par semaine on met dans chaque récipient des fragments d'organe (thyroïde, foie, surrénale, etc.), dont on veut étudier l'action sur le comportement des têtards. Pour chaque expérience un lot témoin d'animaux ne reçoit pas de tissus organiques ni d'alimentation spéciale. L'eau est changée quotidiennement et même deux fois par jour, au moment des temps chauds. On ne fait pas passer de courant d'air dans le liquide. L'administration d'organes est arrêtée quand les membres antérieurs apparaissent. Les animaux peuvent être photographiés après addition à l'eau qui les contient de quelques gouttes de chloroforme.

Dans ces conditions, Gudernatsch a constaté que l'adminis-

tration de thyroïde de Cheval détermine, au bout de trois à cinq jours des changements notables, observables sur tous les têtards éprouvés, se poursuivant parallèlement d'un individu à l'autre et indépendants de l'âge des sujets.

Ces changements consistent :

1° En un arrêt de la croissance ;

2° En une accélération de la métamorphose.

La substance thyroïdienne agit spécifiquement : l'administration de foie, de surrénale, d'hypophyse ou de muscle de Cheval, de testicule ou d'ovaire de Chien ou de Chat n'est pas suivie d'une action comparable à celle de l'administration de thyroïde. Par contre, le thymus de Cheval accélère la croissance et retarde la métamorphose du têtard. (Gudernatsch).

Il n'existe pas de spécificité de groupe zoologique dans l'action de la thyroïde : les thyroïdes des mammifères sont actives sur la métamorphose ; il en est de même des thyroïdes des poissons, par exemple des Sélaciens *(Scyllium canicula)* et des Téléostéens *(Cyprinus carpo)* (Sembrat, 1927).

La métamorphose complète, due aux ingestions de thyroïde fraîche, présente les mêmes caractères que la métamorphose naturelle spontanée : elle affecte de la même façon que celle-ci les différents organes et les formes extérieures de l'animal (Romeis, Lim, Cooksey, Swingle, etc...), et s'accompagne également d'hypermétabolisme. Ce dernier phénomène se retrouve après hyperthyroïdisation aussi bien chez *Rana* que chez *Bufo*, *Amblystoma* (Asher) et *Salamandra* (Gayda, Huxley, Nagel, Schwartzbech et Uhlenhuth). On note en même temps une diminution du CO^2 exalé (Abelin).

Alphonse et Baumann (1934) sont revenus, à plusieurs reprises, sur le mode de perforation de l'opercule brachial. Champy (1920), puis Dragoiu et Faure-Fremiet (1921), sur les modifications histologiques des différents tissus, et notamment du parenchyme hépatique, au cours de la métamorphose provoquée par la thyroxine.

Dustin a vu que l'administration de thyroïde à des têtards de *Rana fusca* provoquait la pycnose des petites cellules thymiques et l'atrophie de l'organe, observation qui a été contestée par Kahn.

Certains auteurs ont insisté de façon plus particulière sur les différences qui existent entre métamorphose spontanée et

métamorphose provoquée et qui confèrent à cette dernière un cachet spécial.

Crotonei et Kahn ont signalé l'éruption primitive du membre antérieur gauche (alors que le membre antérieur droit perce le plus souvent en premier lieu, lors de la métamorphose naturelle) et le retard plus ou moins grand constaté dans l'apparition du membre antérieur droit. Cependant, en ce qui concerne les larves de *Rana temporaria*, Kollmann ne pense pas que ce phénomène soit en rapport avec la thyroïde.

On a signalé également la forme spéciale, en violon, que prend le tronc et la disparition rapide de la queue. Celle-ci est à peu près résorbée lors de la percée des membres antérieurs, tandis que dans la métamorphose naturelle, la queue est encore bien développée quand les membres antérieurs sont sortis. Quant au cerveau, sa croissance est parfois irrégulière, d'où des anomalies fréquentes (Cooksey).

Dans certains cas, cependant, la substance thyroïdienne ou ses dérivés, surtout aux doses faibles, peut induire une métamorphose semblable à la métamorphose naturelle, sauf en ce qui concerne la vitesse du phénomène : il y a d'abord rapide différenciation, puis disparition des caractères larvaires organiques (« action douce » de Kahn).

Enfin, d'après Allen, l'effet de la thyroxine est sensiblement le même que les têtards soient normaux, hypophysectomisés ou thyroïdectomisés.

Larves d'Urodeles

a) *Tritons et salamandres.* — L'administration de tissu thyroïdien à des larves de tritons et de salamandres accélère leur métamorphose. A noter que chez certaines de ces larves *(Triturus Viridescens)*, l'action de la thyroïde est fortement influencée par la température (Slyke, 1932).

Pour Reis (1926), les agents qui déterminent la métamorphose dans le corps des Salamandres existent non seulement au cours de cette métamorphose comme on l'avait admis avant lui, mais persistent encore pendant toute la vie des Salamandres adultes, ainsi que le prouvent les métamorphoses de greffes larvaires pratiquées sur ces animaux.

b) *Axolotl.* — On sait que l'axolotl est la forme pœdogenetique de l'*amblystoma tigrinum*. Cette larve offre un bel exemple

de neotenie car dans nos pays elle n'atteint que très rarement sa forme adulte et se reproduit tout en restant à l'état larvaire.

Babak et Laufberger furent les premiers, en 1913, à utiliser l'Axolotl comme réactif de la substance thyroïdienne. Mais l'étude la plus précise a été faite par Jensen (1916).

Jensen constate que quatre axolotls immatures, longs de 10 à 16 centimètres, se métamorphosent en 17-25 jours après 3-8 ingestions de thyroïde de Veau à la dose totale de 1 à 3 grammes. De même, dix Axolotls immatures recevant de 1 à 10,5 g. d'iodothyrine dans la cavité péritonéale, se métamorphosent en 17-25 jours. En outre, quatre Axolotls sexuellement mûrs de 22 à 24 cm. de long et 2, âgés de plus de 6 ans, subissent également la métamorphose sous l'action de l'iodothyrine, mais dans ce cas, l'effet est moins rapide (27-32 jours). Ultérieurement, Jensen (1920-1921), étudiant l'action métamorphotique de dérivés iodés, n'utilise que la voie péritonéale chez les animaux âgés de 1 à 3 ans et dont le poids est compris entre 35 et 80 g. Il souligne, également, qu'avec des doses convenables, il est possible d'obtenir une métamorphose incomplète, soit une sorte de « demi-Amblystome », susceptible de faire retour à l'état larvaire ou de rester fixé à ce stade.

Ces résultats de Jensen ont été généralement confirmés notamment par Kaufman, Huxley et surtout par l'école de Zavadovsky.

Zavadovsky (B.-M.) et Zavadovsky (E.-V.), 1926, distinguent quatre phases de réaction chez les Axolotls hyperthyroïdisés expérimentalement :

1re Phase : la saillie des yeux est marquée, les branchies et les nageoires se raccourcissent.

2e Phase : les branchies et les nageoires sont réduites de moitié ; les yeux ont acquis l'aspect adulte ; les animaux à cet effet sont dits avoir subi une demi-métamorphose.

3e Phase : les branchies et les nageoires n'existent plus qu'à l'état de vestiges et les fentes branchiales ne sont pas encore fermées.

4e Phase : accomplissement parfait de tous ces processus.

Selon ces expérimentateurs, les Axolotls de 19-20 mois font leur métamorphose 50 jours après avoir subi l'action d'une solution de thyroïdine à 0,01 pour 100.

Zavadovsky et Liptschina (1928), retiennent comme carac-

téristique de l'action thyroïdienne, la réduction de la nageoire dorso-caudale chez l'Axolotl. Un milligramme de thyroïdine suffit à déterminer la métamorphose de sujets âgés de 2 ans (ayant 19-20 cm. de longueur et pesant 70-80 g.).

L'implantation sous-cutanée de tissu thyroïdien provenant de mammifères détermine la métamorphose de l'Axolotl. Un poids de 30 à 50 milligrammes de ce tissu est suffisant à cet effet. Les tissus thyroïdiens du Chien, du Chat, du Lapin, du Cobaye, de la Poule et du Pigeon sont à peu près également actifs sur cette métamorphose (Zavadovsky et Novikova, 1927).

L'administration simultanée d'ovoglandol et de thyroïde desséchée ralentit ou même inhibe la métamorphose chez l'Axolotl femelle. Il n'en est pas de même pour l'Axolotl mâle qui se métamorphose sous l'action simultanée de ces deux substances. Par contre, tandis que la métamorphose due à la thyroïde est accélérée par injection de folliculine (4 unités) chez le mâle, elle n'est pas modifiée par un tel traitement chez la femelle (Lundgerg, 1927).

Après extirpation des poumons, les larves d'Axolotl se métamorphosent comme les témoins sous l'action de la thyroïde (Garber, 1930).

Beaumann a indiqué, en 1936, que de fortes doses de thyroxine appliquées à de très jeunes larves d'Axolotl, déterminent une régression de l'extrémité caudale. (Métamorphose atypique).

D'après Reis (1926), les agents qui déterminent la métamorphose sont encore actifs chez les Amblystomes adultes (comme chez les Salamandres et les Tritons), car la peau d'Axolotl greffée sur ces Amblystomes se métamorphose à son tour.

Signalons enfin que la métamorphose de l'Axolotl s'observe encore dans des conditions où la thyroïde ne paraît pas intervenir directement : changement brusque dans la quantité d'aliments fournis, assèchement ou forte diminution du volume du liquide dans lequel l'animal vit, variation de la température de ce liquide (Schufeldt), respiration aérienne forcée de l'animal (Chauvin), transport de l'animal de son habitat normal dans d'autres régions (par exemple, transport de New-Mexico à New-Hawen, Swingle) et, enfin administration d'acide salicylique dont les doses de 0,2 g. relativement espacées, à cause de leur toxicité, déterminent un rapide raccourcissement des branchies et des nageoires, la mort survenant avant que s'achève la métamorphose (Kaufman).

Larves d'Urodeles Perennibranches

Jensen a constaté que chez *Necturus* adulte, l'ingestion de thyroïde même suivie par l'injection d'iodothyrine, ne détermine qu'une légère modification des branchies. Huxley et Hogben, Swingle, ont été incapables de déterminer la métamorphose de *Necturus*, soit par ingestion prolongée (sept semaines) de thyroïde fraîche de Bœuf ou de thyroïde desséchée, soit par greffe de thyroïdes, soit enfin, par administration simultanée de thyroïde desséchée et de substance antéhypophysaire.

Et si Allen a pu obtenir l'apparition de quelques phénomènes métamorphiques chez *Necturus*, c'est par un traitement (thyroxine et adrénaline) qui amène rapidement la mort de l'animal.

A ces expériences directes et négatives s'oppose dans une certaine mesure le fait que Reis (1932), aurait déterminé une métamorphose de la peau du *Proteus anguineus* greffée sur le dos d'Amphibiens adultes (Amblystomes, Salamandres, Tritons). L'auteur en déduit, puisque par ailleurs, la thyroïde est incapable d'opérer à elle seule cette métamorphose que l'hormone thyroïdienne ne doit pas être le seul facteur déterminant de ce phénomène.

CHAPITRE VI

INFLUENCE DE LA NATURE DES PRÉPARATIONS THYROIDIENNES

Thyroïdes normales et pathologiques, Produits de perfusion, Produits d'hydrolyse, Produits de fractionnement, Thyroxine et dérivés

Thyroïdes normales et pathologiques

Nous avons vu que l'administration de tissu thyroïdien normal, frais ou desséché, détermine l'accélération de la métamorphose et l'inhibition de la croissance chez les têtards d'Anoures et chez les larves de certains Urodeles. Il faut encore examiner quelle peut être l'influence sur cette action de l'état physiopathologique de la glande.

Les thyroïdes de fœtus de nouveau-nés, chez l'Homme, sont moins actives que les thyroïdes d'adultes (Tanberg, 1927). Pour Wegelin et Abelin (1921), la thyroïde de nouveaux-nés, en général dépourvue d'iode et de colloïde, est inactive sur le têtard, mais il suffit qu'elle contienne des traces d'iode pour se montrer active. La thyroïde des animaux herbivores nouveau-nés et de fœtus d'herbivores, qui contient généralement de l'iode est active.

D'après Gunthrop (1932), la vitesse de développement des têtards nourris de thyroïde est proportionnelle à la quantité d'iode de la thyroïde fournie ; cependant, il faudrait faire une exception pour les thyroïdes d'Homme et de Chat qui, peu riches en iode, produisent un développement très rapide.

La thyroïde humaine goîtreuse a été jugée inactive (Abderhalden et Schiffmann, 1923 ; Rogoff et Marine), peu

active (Spatz, 1927), irrégulièrement active (Wegelin et Abelin) ou aussi active à teneur égale en iode que la thyroïde normale (Graham, 1916). La discordance de ces résultats peut trouver son explication dans la différence de nature des goîtres étudiés. En tous cas, la thyroïde présentant le type de goître colloïde diffus est aussi active que la thyroïde normale.

Lelkes (1936), a constaté que l'administration de thyroïde de fœtus issus d'une région à goître inhibait la métamorphose des têtards.

L'activité des thyroïdes de basedowiens sur la métamorphose des têtards présente de grandes variations d'un cas à l'autre. Aussi les résultats publiés par les expérimentateurs en ce qui concerne cette activité sont-ils contradictoires. Pour Wegelin et Abelin, la substance de thyroïde de basedowiens est très active sur les têtards ; par contre, pour Abderhalden et Schiffmann, elle est inactive. Enfin Kahn (1924), a observé avec ces thyroïdes l'action accélératrice du type « doux » qui a été précédemment décrite. Pour P. Roth (1934), l'action des thyroïdes humaines pathologiques reste incertaine et devrait être examinée à nouveau par comparaison avec des solutions titrées de thyroxine.

Une question particulièrement intéressante en dehors de l'action de ces différentes thyroïdes à divers états physiologiques ou pathologiques, c'est l'étude de l'influence de la thyroïde des Anoures eux-mêmes suivant les stades de leur développement.

Stanislawa Slowikowska a constaté, en 1923, avec vérifications histologiquess, que la glande thyroïde de jeunes têtards, introduite dans l'organisme de têtards du même âge n'accélère pas la métamorphose et ne porte pas atteinte au développement de leur propre glande.

Par contre, la glande thyroïde du têtard, lorsqu'elle est prélevée à la phase la plus active de la métamorphose et qu'on l'introduit dans l'organisme de jeunes têtards ayant leur propre glande thyroïde provoque une accélération typique de la métamorphose, comme le fait la glande thyroïde des Mammifères et retarde de façon considérable le développement de leur propre glande thyroïde.

Enfin, la glande thyroïde des Grenouilles adultes raccourcit, elle aussi, la métamorphose. Bien que les recherches histologiques de Mayerowna (1922), aient démontré que la thyroïde des Grenouilles, comme celle des jeunes têtards, mais à l'en-

contre de ce qui se passe chez le têtard en métamorphose, n'a pas le caractère d'organe actif, cependant cette glande implanté dans le cœlome de jeunes têtards accélère leur métamorphose. Cette dernière constatation est à rapprocher des résultats de Reis que nous avons déjà signalés et suivant lesquels la peau des Amphibiens larvaires se métamorphose quand on la greffe sur le dos des Amphibiens adultes.

Ajoutons, en terminant, qu'on a même « essayé » sur des têtards des fragments de tumeur ovarienne pour confirmer leur nature thyroïdienne (Plaut, 1931).

Produits de la perfusion thyroïdienne

Par perfusion de glandes thyroïdes de Cheval prélevées aussitôt après la mort de l'animal, Hikes et Wagner, en 1933, ont obtenu un liquide ayant une influence très marquée sur la métamorphose des têtards de *Rana fusca*. L'évolution accélérée de la métamorphose leur semble prouver que ce n'est pas seulement l'iode accumulé dans la glande qui passe, mais qu'il s'agit réellement de produits endocriniens spécifiques.

Produits d'hydrolyse

Les produits de digestion fermentaire (pepsique puis pancréatique, enfin erepsique), produits abiurétiques dont la teneur en azote aminé est maxima, ont une activité quantitativement égale à la thyroïde qui a servi à leur préparation (Abderhalden). L'iodothyrine, dérivé d'hydrolyse acide de la substance thyroïdienne est active sur la métamorphose. Par exemple, une dose de 5 mg. d'iodothyrine renfermant 1,05 % d'iode ou une dose de 1,5 mg. d'iodothyrine contenant 4,53 % d'iode, suffisent, pour 100 grammes d'animal à déterminer la métamorphose de l'Axolotl (Jensen). Cependant, les produits d'hydrolyse acide ne possèdent qu'une partie de l'activité initiale de la substance dont ils dérivent (Abderhalden).

Marine et Rogoff (1916), en utilisant l'hydrolyse alcaline, suivant Kendall, constatent que la fraction A provenant de tissu thyroïdien normal, se montre, à doses équiiodées, plus active que la thyroïde, tandis que la fraction B est inactive. Cette fraction A provenant de thyroïdes hyperplasiques, serait inactive sur la métamorphose des têtards (Rogoff et Marine).

Produits de fractionnement par solvants et déféquants

Les essais de fractionnement de la substance thyroïdienne tentés par Romeis, ont montré que, seuls, les extraits aqueux ou ceux obtenus par l'alcool faible, possèdent une action sur la métamorphose des Amphibiens, à l'inverse des extraits acétoniques, alcooliques forts, éthérés et toluéniques qui sont inactifs. La fraction soluble dans l'alcool dilué de l'extrait alcoolique du résidu d'évaporation à siccité de l'hydrolysat sulfurique de tissu thyroïdien de Bœuf est plus active que la fraction insoluble dans l'alcool dilué (Abderhalden et Schiffmann).

Seaman (1920), rapporte que les extraits thyroïdiens obtenus par l'épuisement des glandes au moyen d'alcool à 95°, possèdent une action accélératrice intense sur la métamorphose des Batraciens, tandis que le résidu n'est doué d'aucune activité. Mais d'après Morse (1914), la thyroïde épuisée par l'alcool et l'éther conserve son activité et, d'après Kahn, ne l'abandonne que partiellement.

L'émulsion aqueuse des lipoïdes obtenus par extractions successives de la substance thyroïdienne fraîche ou desséchée au moyen d'acétone, d'éther de pétrole, puis de benzine, est inactive sur la métamorphose des têtards. Le résidu provenant de ces extractions, par contre, est actif. L'extrait alcoolo-éthéré de ce résidu est également actif, il est d'ailleurs iodé alors que les lipoïdes inactifs ne le sont pas (Pighini, 1927).

L'activité des extraits aqueux est fortement diminuée par défécation protéïque, en tous cas, elle est beaucoup plus faible que celle des produits obtenus par hydrolyse acide, alcaline, fermentaire ou par autolyse (Romeis).

L'extrait aqueux de thyroïde perd une partie de son activité quand on le débarrasse de ses matières protéiques par ébullition en milieu acétique (Groebbels).

Des travaux qui viennent d'être exposés, il résulte que la substance thyroïdienne active qui intervient dans la métamorphose des Batraciens, est liée par nature ou par adsorption à une molécule protidique soluble dans l'alcool dilué. On sait, d'ailleurs, que la thyroglobuline, protide thyroïdien est active sur les têtards (Romeis, Morse).

Cependant, le thyroglandol, pauvre en iode et exempt de matières protéïques, accélère le développement chez les Anoures (Romeis), mais il faut employer des doses relativement fortes

de thyroglandol et pendant un temps très long. De plus, ce produit stimule la croissance.

Thyroxine et ses dérivés

La thyroxine naturelle est active sur la métamorphose des Anoures, à des doses excessivement faibles. Une dose de 0,03 mg. de thyroxine suffit à déterminer la métamorphose d'un Axolotl de 10 grammes. (Zavadovsky et Asimoff, 1927).

La thyroxine synthétique possède, sur la métamorphose des têtards, une action identique à celle de la thyroxine naturelle (Abderhalden et Hartmann, 1927 ; Fontes et Aron, 1929).

L'acétylthyroxine est active sur le têtard (Hoskins M., 1927).

La thyroxamine, c'est-à-dire l'amine résultant de la décarboxilation de la thyroxine serait active sur l'Axolotl (Abderhalden et Wertheimer) et possèderait sur le têtard une action thyroxiniforme, peut-être attribuable à l'alcool acide employé comme solvant de cette amine (Gaddum).

La thyronine est active, même en présence d'iodure de potassium, sur la métamorphose des têtards (Gaddum, Abderhalden et Wertheimer) ou des Axolotls (Abderhalden et Wertheimer).

La diiodothyronine est moins active que la thyroxine (Gaddum, Abderhalden, Demole).

La substitution d'atomes d'halogènes (Cl ou Br) aux atomes d'iode diminue l'activité. Les composés chlorés sont moins actifs que les dérivés bromés. La tétrabromothyronine est encore active sur les têtards et sur l'Axolotl (Abderhalden et Wertheimer).

Enfin, l'isothyroxine est inactive (Gaddum).

CHAPITRE VII

FACTEURS EXTRINSÈQUES SUSCEPTIBLES DE MODIFIER L'ACTION DES PRÉPARATIONS THYROIDIENNES

Volume de la solution, Température, Réaction ionique, Sels minéraux, Alimentation, Antithyroïdiens, Substances diverses, Rayons X.

Volume de la solution

Plus le volume de la solution thyroïdienne dans laquelle sont immergés les têtards est grand, plus le développement est rapide, la substance thyroïdienne n'agissant pas seulement sur le tube digestif, mais pénétrant à travers les téguments de la larve (Gunthrop, 1932).

Température

A une température de 20°, la métamorphose provoquée se fait d'autant plus vite, que la concentration de thyroïdine est plus forte. Aucun témoin n'a montré, pendant la durée de l'expérience, le moindre début de tranformation spontanée. A la température de 7°, la métamorphose ne s'est produite dans aucun cas : même la dose optimum de thyroïdine est restée inefficace. La métamorphose déjà commencée s'arrête quand les têtards sont transportés dans l'eau à 7°, même si on ajoute de la thyroïdine. La métamorphose est considérablement accélérée quand les têtards sont placés à 30° ; la vitesse augmente avec la concentration en thyroïdine : cependant, les

fortes doses provoquent la mort. Les têtards témoins, maintenus à 30°, se métamorphosent spontanément et très vite, dépassant comme stade d'évolution les têtards même traités par une dose optima de thyroïdine, mais maintenus à 20°.

Les résultats sont de même ordre chez l'Axolotl où les hautes températures (30°) accélèrent, et où les basses températures (7°) retardent, la métamorphose déclanchée par la thyroïdine (Belkin, 1934).

Réaction ionique

L'activité de la thyroxine serait optimale entre pH 6 et pH 7 et entre pH 7,7 et pH 8,5 (Zondek et Ucko, 1924).

Sels minéraux

Abderhalden, en 1923, avait émis l'hypothèse que les ions Ca et Mg (surtout ce dernier), jouaient un rôle important dans la métamorphose expérimentale des têtards. Zondek et Reiter, à la même époque, pensaient que l'ion K favorisait l'action de la thyroxine tandis que l'ion Ca l'inhibait. En 1925, Keiser montrait que les ions Na,K, et Ca étaient au premier plan alors que le rôle du Mg était assez effacé. Kosmina et Restniscenko (1927), ont nié l'action des sels sur la métamorphose expérimentale de *Rana arvalis*.

Roth, à son tour, est intervenu à différentes reprises dans cette question.

Dix-huit têtards de *Rana temporaria*, provenant d'une même ponte sont immergés deux par deux dans neuf cristallisoirs, contenant un même volume d'eau, cette eau étant additionnée d'une solution de thyroxine.

Volume d'eau : 25 cm³. — Première rangée : cristallisoirs A1, A2, A3, contenant de l'*eau de la ville* ramenée à 0,0615 de Ca total (dureté totale D^t 8°).

Deuxième rangée, cristallisoirs B1, B2, B3, contenant de l'*eau de mare* (Muséum), renfermant 0,1233 de Ca total (D^t 15°).

Troisième rangée : cristallisoirs C1, C2, C3, contenant l'*eau de la ville*, renfermant 0,1873 de calcium total (D^t 20°).

L'eau des récipients A1, B1, C1, renfermait une dilution de thyroxine à 1 pour 10.000.000 ; A2, B2, C2, thyroxine à 1 pour 25.000.000 ; A3, B3, C3, thyroxine à 1 pour 50.000.000.

Le quatrième jour de l'expérience, tous les animaux du groupe A (A1, A2, A3), moururent alors que ceux des deux

autres groupes B et C étaient bien vivants le 7e jour avec cette différence que les phénomènes d'ectodermose décrits par W. Schultze (1924), étaient nets chez les animaux du groupe B1, C1 (thyroxine à 1 pour 10.000.000), atténués chez ceux du groupe B2, C2 (thyroxine à 1 pour 25.000.000), très légers chez ceux du groupe B3, C3 (thyroxine à 1 pour 50.000.000). Néanmoins, ces phénomènes étaient plus apparents chez les têtards du groupe B (B1, B2, B3) (eau de mare), où la teneur de l'eau en Ca était de 1/3 plus faible. Cette expérience donna les mêmes résultats avec des têtards provenant de trois pontes.

Dans une deuxième série d'expériences, dix têtards d'une même ponte furent immergés dans 2.000 cm³ d'eau de la ville contenant de la thyroxine au 1/100.000.000 et 0,397 de *magnésium* au lieu de 0,097 que cette eau renferme habituellement. L'on obtint trois métamorphoses, malgré la faiblesse de la dilution, alors que les témoins en étaient encore loin.

Le résultat de ces expériences concorde avec les analyses de Keiser, cet auteur ayant montré que du 15e au 84e jour après l'éclosion, la croissance des têtards de *Rana temporaria* était sous l'influence du rapport K/Ca avec prédominance du Ca alors que du 1er au 15e jour, c'est le K qui domine. Or, les animaux soumis à ces expériences étaient âgés de 40 à 45 jours.

Dans une troisième série d'expériences, les animaux choisis de même longueur et provenant d'une même ponte, étaient répartis, en nombre égal, dans douze cristallisoirs groupés de la façon suivante :

I. — Eau de source, riche en chaux (D^t 20°) lots A-D-H.

II. — Eau privée de chaux (KCL = 0,01, NaCl = 0,01, SO^4Mg = 0,02, PO^4Na^3H = 0,01), lots B-E-I.

III. — Eau distillée dans un appareil en verre, lots C-F-J. Chaque série comprenait quatre lots renfermant chacun 250 cm³ de milieu d'élevage. Le premier lot de chaque série contenait du milieu seul (lot témoin). Les trois autres contenaient du milieu additionné de thyroxine diluée au 25-50-75 millionièmes. Nourriture des animaux : poudre de muscle. Température moyenne 18-20°.

Ces expériences ont donné les résultats suivants :

I. — *Eau de source.* — Avec des larves très jeunes (2e jour de l'éclosion) nombreuses métamorphoses, avec une mortalité faible

dans les lots où la thyroxine était en moindre proportion (50 à 75.000.000e). Temps total : 25 jours.

Avec des têtards âgés de 30 jours, ayant déjà les ébauches des pattes postérieures (stade B de Kollmann) tous les individus se métamorphosèrent et d'autant plus rapidement que la concentration de la thyroxine dans le milieu d'élevage était plus forte. Temps : 14 à 36 jours.

Avec des têtards ayant des pattes postérieures petites mais visibles (stade C de Kollmann), la métamorphose fut aussi générale, mais plus rapide, le stade de croissance étant plus avancé ; comme toujours, le temps de la métamorphose fut d'autant plus rapide que la concentration de la thyroxine était plus élevée. Temps : 17 à 24 jours.

II. — *Eau privée de chaux.* — Avec des larves jeunes, quelques métamorphoses, mais la mortalité a été très élevée dans tous les lots, même dans le lot témoin, l'addition de thyroxine aggravant les choses en fonction de sa concentration dans le milieu d'élevage.

Avec les têtards plus âgés, très nombreuses métamorphoses, les animaux métamorphosés ayant une taille plus réduite que ceux métamorphosés dans l'eau de source. Le temps des métamorphoses était également plus réduit, les métamorphoses les plus précoces et les tailles les plus réduites se produisant toujours chez les animaux du lot le plus thyroxiné (1/25.000.000e). Temps : 14-19 et 12-22 jours).

III. — *Eau distillée.* — Chez les larves jeunes, en l'absence de sels, on observe dans tous les lots de la série un gonflement des téguments et une déviation très accentuée de la queue, une partie des têtards meurent ; mais tandis que les survivants des animaux du lot témoin guérissent à la longue, la cachexie thyroïdienne apparaît très rapidement dans les autres lots, et on n'obtient que des monstruosités. Temps total : 8 jours.

Avec les têtards plus âgés, la mortalité est nulle parmi les animaux témoins et parmi ceux du lot le plus faiblement thyroxiné (1/25.000.000e). Elle est faible parmi les animaux des lots les plus thyroxinés (25-50.000e). La taille des animaux métamorphosés et le temps de métamorphose sont encore plus réduits que dans l'eau privée de chaux et toujours en fonction de la concentration de la thyroxine. Temps : 14-18 et 12-17 jours.

De ces résultats, il ressort nettement que les constituants salins du milieu, et en particulier l'ion Ca, sont nécessaires à la vie des très jeunes larves et indispensables à leur métamorphose expérimentale. Plus tard, les têtards ayant des réserves calciques, résistent évidemment beaucoup mieux à l'absence de sels dans le milieu d'élevage ; mais dans ce cas, l'influence de la thyroxine paraît être plus efficace, leur métamorphose se produit plus rapidement et leur taille est plus réduite que celle des animaux vivant dans l'eau de source.

Le calcium qui, suivant Dodel et Jouve, est un accélérateur de la métamorphose naturelle des Batraciens, est donc un modérateur de leur métamorphose expérimentale, s'opposant à l'action de la thyroxine tant que celle-ci ne se trouve pas dans le milieu d'élevage, à une concentration trop élevée.

Plus récemment, Sutter (1941), a recherché l'action des sels de cuivre (aspartate, acétate et sulfate) sur la métamorphose expérimentale des Batraciens. L'auteur arrive à la conclusion que ces sels accélèrent la cachexie thyroïdienne, mais ralentissent considérablement la métamorphose. L'action freinatrice est particulièrement nette au niveau des membres. L'auteur souligne l'intérêt de cette dissociation.

Puech et Roche, en 1938, ont examiné l'influence de quelques *eaux minérales* sur la lethalité et le développement des têtards soumis à l'action de la thyroxine.

Vichy-Hôpital exagère la toxicité de la thyroxine et son action sur la croissance.

Les sources de Saint-Nectaire-Saint-Cézaire et de Châtel-Guyon-Deval, ont des effets inverses ; elles diminuent la toxicité de la thyroxine et inhibent fortement ses effets sur la taille et la métamorphose.

L'influence des sources de La Bourboule, Choussy et Fenestre, est plus complexe et d'interprétation moins simple ; dans ces sources additionnées de thyroxine et surtout dans Fenestre, les animaux vivent plus longtemps que les témoins, en même temps que leur taille augmente et que leur métamorphose s'exagère.

On obtient des résultats analogues avec Le Mont-Dore-Chanteurs. Ils permettent de parler de protection contre la thyroxine et d'action eutrophique générale de ces eaux minérales.

Vichy Grande-Grille et Vergèze-Perrier paraissent exagérer comme Vichy-Hôpital les effets de la thyroxine sur la morphogénèse tout en ne modifiant pas sa toxicité.

Alimentation

Opérant sur des lots de têtards, les uns privés de nourriture, les autres alimentés au moyen de viande de Bœuf, de muscles de Grenouilles et de jaunes d'œuf, Kollmann (1919), affirme que le rôle de l'alimentation se réduit simplement à offrir aux têtards les matériaux nécessaires pour atteindre l'état où ils deviennent sensibles aux préparations thyroïdiennes.

Jarisch (1920), puis Kahn, ont constaté, de leur côté que l'action de la thyroïde était ralentie quand les animaux reçoivent après leur contact avec le dérivé thyroïdien, des aliments azotés ou des aliments faisant l'épargne de l'azote (des graisses par exemple).

L'action de la thyroxine à faibles doses n'est pas modifiée par la vitamine C (Schroeder et Dorman, 1936). La vitamine A, par contre, est considérée depuis les recherches de Von Euler, comme un antagoniste de la thyroxine en ce qui concerne la métamorphose des têtards.

Antithyroïdiens

Le sérum des animaux éthyroïdés est employé en thérapeutique, sous le nom d'antithyroïdine, pour combattre la maladie de Basedow. Nous voyons dans le tableau suivant emprunté à Blanchard, Penau et Simonnet, qu'il inhibe également la métamorphose provoquée des larves de Batraciens.

Nature de la substance	Nature de la larve traitée	Effet sur la métamorphose provoquée	Expérimentateurs
Antithyroïdine Moebius.	Têtard thyroïdisé	Arrêt d'effet (quand thyroïdisation légère)	Romeis 1916
Antithyroïdine Moebius.	Têtard thyroïdisé	Arrêt d'effet (quand thyroïdisation légère)	Kahn 1924
Sang séché et pulvérisé d'une chèvre éthyroïdée depuis un mois et demi.	Axolotl thyroïdisé	Inhibition d'effet thyroïdien	Asimoff 1926
1. Extrait alcoolo-éthéré ..... de sang de 2. Filtrat de défécation protéique complète de mouton éthyroïdé 3. Fraction euglobulique.....	Têtard thyroïdisé	1 et 2, sans effet sur la métamorphose provoquée 3. Inhibition de cette métamorphose	Gurber et Gessner 1928
Sang de mouton normal.....	Têtard thyroïdisé	Légère inhibition	

Belkin, en 1934, a encore repris des expériences de même genre sur l'Axolotl et montré que l'antithyroïdine Merck à 1 pour 4.000 inhibait totalement la métamorphose provoquée par des doses faibles de thyroxine.

Substances diverses

Gessner (W.), a étudié de quelle façon l'action unique de dérivés thyroïdiens (thyraden) sur les têtards de *Rana temporaria*, de *Bufo vulgaris*, et d'*Alytes obstetricans* est influencée par différents modificateurs du système nerveux organo-végétatif, par eux-mêmes inefficaces sur la métamorphose naturelle. Les résultats sont rapportés dans le tableau suivant :

Substances	Concentration	Influence sur la métamorphose provoquée
Acetylcholine. ...	0,3 ×10-3	Inhibition
Atropine.	0,5 ×10-5	Accélération
Choline.....	.....	Inhibition
Ergotamine	0,5 ×10-3	Accélération
Ethanol.....	1 ×10-2 1 ×10-3.	Inhibition
Insuline.....	1 unité p. 500 cm³	Inhibition
Muscarine.	1 ×10-5.	Inhibition
Pilocarpine.	0,2 ×10-4	Inhibition

D'après Gessner (O.), la synthaline de 1.10 à 1.10-8, produit également une inhibition.

L'action inhibitrice de la quinine a été signalée par Clarke, Lenhart, Trochin, Kroszezinski et Modrakowski sur les têtards de Grenouille et par Belkin sur l'Axolotl. Les concentrations actives sont de l'ordre de 1 pour 10.000.

Dodel et Dastugue (1938), n'ont relevé aucune action antagoniste avec des extraits perthymiques, de la poudre desséchée d'épiphyse, le mélange épiphyse-thymus, et des extraits ovariens.

Rayons X

Les têtards de *Rana catesbyana* exposés aux rayons X et recevant une ration alimentaire de glande thyroïde, se métamorphosent beaucoup plus rapidement que ceux nourris à la

thyroïde, mais non irradiés, (Cord et Marinus, 1918). L'irradiation seule, n'accélérant pas la métamorphose, les auteurs estiment que les rayons X rendent les têtards plus réceptifs à l'action de la thyroïde. Pour Hykes (1936), si l'émanation du radium favorise bien l'action de la thyroïde elle favorise également la métamorphose spontanée des têtards.

CHAPITRE VIII

SPÉCIFICITÉ DE L'ACTION THYROIDIENNE

Spécificité endocrinienne de la thyroïde, Spécificité des dérivés thyroïdiens : l'iode, Iodures alcalins, Dérivés iodés, Amines iodées, Protides iodés

Blanchard, Penau et Simonnet distinguent d'une part la spécificité endocrinienne de la thyroïde, d'autre part, la spécificité des dérivés thyroïdiens.

Spécificité endocrinienne de la thyroïde

On semble, à l'heure actuelle, admettre, que la métamorphose des Batraciens est un phénomène thyroïdien. C'est la conclusion de Champy, par exemple. Aux faits déjà rapportés par cet expérimentateur, on peut ajouter les faits suivants :

1° La thyroïde se modifie histologiquement au moment de la métamorphose (Allen, chez *Bufo* ; Uhlenhuth, chez *Amblystoma opacum* ; Hirschlerowa, chez *Rana esculenta*).

2° La teneur hormonale de la thyroïde augmente au moment de la métamorphose (Slowiskowska).

3° L'extirpation de certaines zones du névraxe n'empêche pas la métamorphose provoquée par hyperthyroïdisation chez les têtards de *Rana esculenta* et de *Bufo vulgaris* (Cotroneï).

Cependant l'antéhypophyse semble jouer un certain rôle dans la métamorphose des Batraciens. Une interrelation certaine entre la glande thyroïde et l'hypophyse chez les larves de Batraciens est démontrée par les travaux de Adler, Allen,

Hoskins et Hoskins, Ingram, Larson, Rogers, Smith et Smith, Uhlenhuth et Schwartzbach. D'après les suggestions d'Allen, la métamorphose ne pourrait avoir lieu sans iode ; celui-ci est concentré et emmagasiné par la thyroïde, puis utilisé sous le contrôle de l'antéhypophyse. Hoskins et Hoskins, traitent des têtards de *Rana sylvatica* par une préparation anté-hypophysaire contenant 0,0035 mg. d'iode par tablette (Armour). La teneur finale en iode est de 56 millionièmes, teneur insuffisante lorsqu'il s'agit d'iode minérale, pour stimuler la métamorphose des têtards. Cependant, dans ces conditions, la métamorphose des têtards normaux traités est accélérée ; en outre, les têtards éthyroïdés traités présentent dès le premier jour un début de métamorphose, et cette dernière se poursuit, bien que moins rapidement qu'après l'administration de substance thyroïdienne. Ces résultats prouvent-ils la non-spécificité thyroïdienne, ou doit-on les interpréter par une action de l'iode organique contenu dans la préparation anté-hypophysaire employée. La question reste encore débattue ; rappelons, toutefois, qu'Allen obtient la métamorphose des têtards à la fois éthyroïdés et hypophysectomisés par l'administration d'iode minéral en concentrations relativement élevées ou de thyroxine à doses très faibles. Spaul constate qu'un extrait antéhypophysaire est capable d'accélérer la métamorphose de l'Axolotl de l'Utah (race occidentale de *Amblystoma tigrinum*, se métamorphosant spontanément), aussi bien chez l'animal éthyroïdé que chez l'animal opéré. Mais Uhlenhuth et Schwartzbach supposent que Spaul a dû ne pratiquer qu'incomplètement la thyroïdectomie, cette opération étant très délicate à effectuer et la régénération des moindres reliquats thyroïdiens étant très rapide, car, entre leurs mains l'extrait antéhypophysaire, accélérateur de la métamorphose chez l'animal normal, est inactif chez l'animal strictement éthyroïdé. En outre, ces mêmes auteurs insistent sur la nécessité d'employer des extraits provenant d'une substance antéhypophysaire rigoureusement débarrassée de toute substance posthypophysaire. C'est à la non observation de cette condition qu'Uhlenhuth et Schwartzbach attribuent les résultats obtenus par Smith, résultats discordants d'avec les leurs.

La substance thyroïdienne des larves néoténiques de certaines espèces de Batraciens accélère la métamorphose des têtards d'autres espèces de cette même classe de vertébrés et même la métamorphose des larves de leur propre espèce. Ainsi la

transplantation des thyroïdes de *Necturus* est active chez les têtards d'Anoures (Swingle), la transplantation des thyroïdes d'Axolotls sexuellement mûrs agit chez *Rana clamata* dont la vie larvaire est normalement très longue (Swingle), et chez l'Axolotl même (Rolic). Ces faits peuvent-ils infirmer la notion de spécificité thyroïdienne stricte ? Swingle conclut plutôt, tout au moins en ce qui concerne *Rana clamata* et l'Axolotl que la néoténie serait due à un défaut d'excrétion du principe thyroïdien, défaut dont le mécanisme reste encore à déterminer.

Jensen (1920), a recherché dans quelle mesure les cas de métamorphose anormalement précoce ou tardive étaient en rapport avec des modalités particulières de structure susceptibles d'être présentées par la thyroïde du même animal.

Chez l'Axolotl *(Amblystoma mexicanum)*, la persistance de l'état larvaire ou néotonie s'accompagnerait d'une atrophie progressive précoce, avec dégénérescence kystique de la thyroïde. Le même auteur a également découvert des aspects histologiques très intéressants sur des thyroïdes de larves de *Rana esculenta*, *Rana arvalis* et *Bufo vulgaris* à métamorphose anormale.

Spécificité des dérivés thyroïdiens : l'iode

La découverte de la présence presque spécifique de l'iode dans la thyroïde devait avoir comme corollaire la recherche de l'action de l'iode et de ses composés sur la métamorphose.

A) Action sur les *têtards d'Anoures.*

L'iode en solution iodurée, à la concentration finale de 0,03 % est inactif sur la métamorphose des têtards de *Rana pipiens* (Swingle). Cependant, Romeis observe une légère action accélératrice de la solution de Lugol à raison de trois gouttes pour un volume total de 300 cm^3, sur le développement des têtards de *Rana esculenta.*

De même, Uhlenhuth a observé l'accélération de la métamorphose des têtards de *Rana sylvatica* immergés dans de l'eau contenant trois gouttes d'iode 20 /M pour 100 cm^3. Remarquons que l'iode même à très faible concentration (solution aqueuse saturée, diluée 100 fois), est très toxique (Swingle).

L'implantation de 0,4 mg. d'iode pur dans la cavité péritonéale des têtards accélère la métamorphose (Hirschler).

La farine de blé iodée à 1 pour 100 est active même sur les têtards de *Rana pipiens* et de *Bufo lentiginosus* éthyroïdés

(Swingle). Tandis que l'iode employé seul à la dose de 0,8 mg sur 1.000 est inactif *(Rana fusca)*, il accélère la métamorphose si à cette dose il est administré avec de la farine (Kahn). La farine iodée est active sur *Bufo aquatica* (Fulton). De ces derniers travaux, on peut conclure que l'activité de l'iode est intensifiée en présence de substance organique.

Il est curieux de constater que l'administration simultanée de substance thyroïdienne et de solution de Lugol peut inhiber la métamorphose des têtards (Merke et Huber).

L'action de l'iode semble spécifique, puisque le brome est inactif (Swingle).

B) Action sur les *larves d'Urodèles.*

A la concentration de 0,6 mg pour 1.000, l'iode est inactif sur la métamorphose des larves d'*Amblystoma maculatum* (Uhlenhuth).

Cependant, les solutions d'iode à 0 γ 15-7 γ par litre, accélèrent la métamorphose, de *Salamandra maculosa* et de *Triturus vulgaris* (Huxley et Hogben).

Les résultats obtenus sur l'Axolotl dépendent de la voie d'administration. Par immersion des animaux dans une solution iodée à 7 γ 6 par litres (Huxley), ou même dans une solution d'iode à 1 mg.-2,5 mg. par litre (Uhlenhuth), l'iode est inactif. Il l'est aussi lorsqu'il est enrobé dans la viande donnée comme aliment (Huxley et Hogben). Abelin, Giacomini confirment l'inefficacité de l'iode administré *per os.* La solution de Lugol à un vingtième d'iode libre injectée sous la peau tous les deux ou quatre jours pendant deux mois et à la dose de 16,5 cm³ de solution, soit 0,89 mg d'iode, détermine la métamorphose de l'Axolotl dans les deux mois qui suivent la cessation du traitement. L'injection intramusculaire de solution de Lugol au vingtième est active (Abelin et Scheinfinkel). Enfin, l'implantation intrapéritonéale à la dose de 0,4-3 mg. (Hirschler, confirmée par Blacher et Belkin) ou sous-cutanée (Ingram), est active, même sur l'Axolotl du Colorado éthyroïdé et hypophysectomisé (Ingram).

Iodures alcalins

Morse, Lenhart tiennent les iodures alcalins pour inactifs. Leur activité semble cependant dépendre de leur concentration. Ainsi, en concentration de un à deux millièmes, ils accélèrent la métamorphose des larves de *Rana esculenta* (Abderhalden

et Hartmann, Schwaibold). En concentration plus faible, 0,075 pour 1.000, par exemple, ils sont inactifs (Abelin).

L'iodure de potassium administré avec de la farine de blé serait accélérateur de la métamorphose chez *Rana pipiens*, sans toutefois provoquer une inhibition de la croissance (Swingle).

D'après Gaddum, plongés dans des solutions de IK, les têtards absorbent une grande quantité d'iode, mais celui-ci est rapidement excrété par les animaux quand ils sont remis au contact de l'eau pure et son effet est seulement temporaire.

Dérivés iodés

L'iodate de potassium est inactif (Swingle).

L'iodoforme, inactif d'après Morse, serait actif mais très toxique pour Swingle.

L'acide iodobenzoïque, l'acide iodoxybenzoïque (Morse), le triiodophénol (Abderhalden), l'acide diiodosalicylique, le diiodosalol, l'iodopyrine, l'aristol, l'iodogallicine (Abelin), sont inactifs.

Amines iodées

Substances	Résultats	Expérimentateurs
Iodotyramine	+	Abelin.
Diiodotyramine	+	Abelin, Abderhalden et Schiffmann.
3-5-diiodotyrosine	+	Romeis(1), Morse, Swingle, Abderhalden et Schiffmann, Abderhalden (2), Abderhalden et Hartmann, Marshall (3).

(1) Dilution à 1 pour 4.000 chez les larves âgées ; dilution à 1 pour 1.000.000 chez les larves sortant de l'œuf (Romeis).

(2) La d-3-5- diiodotyrosine est bien moins active que la l-3-5- diiodotyrosine.

(3) D'après Hoffman et Gudernatsch (1930), la présence de certains acides aminés (phenylalanine, tyrosine et tryptophane) favoriserait l'action de la diiodotyrosine.

Substances	Résultats	Expérimentateurs
Dibromotyrosine	0	Swingle.
3-5- diiodotyrosine et l'anhydride correspondant	+	Abderhalden et Hartmann, Demole.
Glycyldiiodotyrosine, éther méthylique de la diiodotyrosine	+	Abderhalden et Schiffmann.
l. diiodotryptophane	±	Abderhalden.
4-6-diiodo m hydroxyphenylalanine.	0	Marshall.
5 bromo - O - hydroxyphenylalanine.	0	Marshall.

Protides iodés

Les albumines naturelles peuvent être iodées artificiellement par le procédé de Kurajeff.

Les albumines sont dissoutes dans la soude à 2% et chauffées à 60° C. On ajoute un excès d'iode. Le mélange prend alors une coloration violette et on le maintient pendant 2 heures à 40-50° C. Après refroidissement et repos de 12 heures, on ajoute de l'acide sulfurique à 2%. On filtre, le précipité est lavé avec un mélange d'alcool et d'acide sulfurique jusqu'à ce que le liquide de lavage ne soit plus coloré. Une dissolution alcaline du produit suivie d'une précipitation acide est pratiquée trois fois de suite et le précipité est desséché parfaitement. (voir tableau page suivante).

D'après Remy (1924), l'iode est un agent de contrôle de la métamorphose des têtards. Les substances qui introduites dans l'organisme larvaire accélèrent la métamorphose, contiennent de l'iode : corps thyroïde, substances organiques iodées, substances minérales iodées et même iode en nature. Jusqu'à une certaine limite l'activité d'une préparation iodée est proportionnelle à sa teneur en iode. L'insuffisance thyroïdienne peut être compensée par un apport de substance iodée.

Notons avec Cutting et Tainter (1933) que le *dinitrophénol* qui augmente le métabolisme n'a aucune action d'accélération sur la métamorphose des têtards ; c'est donc que la thyroïde n'agit pas sur la métamorphose en accélérant le métabolisme.

Substances	Réactifs	Résultats	Expérimentateurs
Iodosérum-albumine	Axolotl ..	±	Jensen.
		+	Swingle.
Iodosérum-globuline.	Axolotl ..	±	Jensen.
		+	Rogoff et Marine.
			Swingle.
Iodocaséine.	Rana.	0	Kahn.
		+	Jensen.
Iodogliadine.	Rana.	+	Swingle.
Iodoedestine.....			
Iodogélatine.	Rana.	0	Kahn.
Foie iodé.....	Axolotl...	+	Giacomini.
Rate iodée (d'agneau).	Axolotl...	+	Giacomini.
		+	Rogoff et Marine.
			Marine et Rogoff.
Protides sanguins iodés	Rana.		Morse, Lenhart.
			Romeis, 1918.
			Abelin, 1920, 1921.
		0	Kahn.
Ovo-lécithine iodée.	Rana.	0	Morse.
	Rana. . . .	0	Morse, Kahn.
Ovalbumine iodée.	Rana.	±	Rogoff.
	Axolotl...	±	Jensen.

CHAPITRE IX

TITRAGE DES PRÉPARATIONS THYROIDIENNES SUR LES LARVES DE BATRACIENS

Dose de thyroxine, Durée de séjour dans les solutions, Age de la larve, Sensibilité particulière des différents tissus, Etalon, Pratique de l'essai, Méthode de *Gaddum*, Méthode de *Kreitmair*, Critique de *Swingle*.

Pour qu'une susbtance puisse être considérée comme douée d'une activité analogue à celle de la substance thyroïdienne, il faut qu'elle détermine sur les têtards d'Anoures, simultanément, l'inhibition de la croissance et l'accélération de la métamorphose et sur l'Axolotl, la métamorphose. Cela étant, il reste encore à déterminer, avant de passer à la pratique du dosage proprement dit, l'influence des facteurs suivants : dose de thyroxine, durée de séjour des larves dans la solution, âge de la larve et sensibilité particulière de ses différents tissus.

Dose de thyroxine et durée de séjour dans les solutions

Selon Romeis, la thyroxine en dilution au millionième, administrée deux fois à un jour d'intervalle (la première fois pendant 48 heures, et la seconde pendant 24 heures), a déterminé, sur douze larves de *Rana temporaria*, âgées de douze jours, la métamorphose en une douzaine de jours, alors que celle-ci n'eut lieu, chez les témoins que du trentième au trente-sixième jour. Sur des larves plus âgées (30-48 jours), et avec

le même mode d'administration, la thyroxine agit nettement en dilution au dix-millionième. Si l'immersion de larves de *Rana temporaria* dans la solution de thyroxine, est permanente, celle-ci agit nettement à la dilution au cinq-milliardième sur des larves âgées de 10 jours (la solution étant remplacée tous les trois jours).

Allen obtient sur les têtards de *Rana aurora* une action extrêmement nette (réduction de la taille), avec une dose de 0,005 mg de thyroxine.

Huxley (1923-1925), propose l'étalonnage des substances thyroïdiennes par l'emploi d'Axolotls de même âge, de même poids (70-90 grammes) et de même provenance, sur lesquels on recherche les quantités minima de thyroxine cristallisée et d'extrait thyroïdien susceptibles de déterminer la métamorphose. Dans ces conditions, la dose minimale de thyroxine convenable pour la métamorphose est, en général, de 0,1 mg.

Pour Alphonse et Baumann (1938), un séjour de 30 minutes dans une solution de thyroxine à 1 pour 50.000 suffit sur des têtards de *Rana temporaria* ayant des bourgeons de membres postérieurs longs de 2 mm. pour obtenir un résultat positif. Rapidement les animaux cessent de croître, ce qui est, de l'avis des auteurs, le signe le plus sûr de la réaction à la thyroxine. Deux jours après le retour à l'eau, la forme générale du corps est complètement modifiée dans le sens de la métamorphose : la queue a commencé sa regression, les membres postérieurs sont allongés. Cinq jours plus tard, la longueur de la queue est diminuée de moitié et les membres thoraciques apparaissent à travers l'opercule branchial largement perforé. Le huitième jour, la métamorphose est complète sauf pour la queue qui n'a pas totalement regressé. Si les animaux ont séjourné plus longtemps (1, 2, 4 heures), les résultats sont qualitativement semblables, mais la métamorphose est d'autant plus rapide que l'action de la thyroxine s'est exercée pendant un temps plus long. Enfin, à partir de 8 heures, la marche des phénomènes est identique quelle que soit la durée du séjour : les petits animaux meurent, le quatrième jour, métamorphosés.

Pour la solution à 1 pour 400.000, les effets ne sont sensibles qu'au bout d'une heure. Le troisième jour après la mise à l'eau, les membres pelviens sont considérablement accrus et on devine déjà dans l'aspect actuel l'allure de la future Grenouille. Le même jour, les sujets soumis 8 heures au traitement sont totalement métamorphosés : la queue dépasse à peine l'extrémité des membres pelviens.

Mais comment se comportent les animaux qui n'ont pas séjourné assez longtemps pour se métamorphoser (ici respectivement moins de 30 et 60 minutes) ? Au début, la thyroxine paraît ne pas avoir d'action ; puis, pendant une période d'autant plus courte que la concentration est plus élevée, l'effet obtenu dépend directement du temps d'exposition. Si l'on expérimente sur les animaux plus jeunes, plus éloignés de l'époque de la métamorphose et dont les différences de sensibilité régionales sont beaucoup plus accusées, cette période qui permet d'obtenir une gamme de résultats s'étendant de l'arrêt de croissance à la métamorphose complète, se trouve être beaucoup prolongée, donc plus facile à étudier.

En résumé, la thyroxine semble agir en fonction du temps d'exposition d'après le schéma suivant, pour une dose et un âge donnés : au début, effet nul, puis action progressive jusqu'à la réalisation de la métamorphose ; par la suite, seule la rapidité de la métamorphose est influencée jusqu'au moment où celle-ci même ne varie plus.

Age de la larve

Prenons, comme l'a fait Kollmann (1919), des têtards de *Rana temporaria* à des degrés de développement définis de la sorte :

a) aucune trace de pattes postérieures,

b) présence de bourgeons blanchâtres précédant l'apparition des pattes postérieures,

c) présence de pattes postérieures visibles, mais très petites,

d) présence de pattes plus grandes mais presque droites et allongées sur la queue,

e) présence de pattes encore plus grandes, mais encore allongées sur la queue,

f) présence de pattes en flexion comme chez l'adulte,

g) corps commençant à prendre la forme de l'adulte,

h) présence de membres antérieurs.

Soumettons ces individus, à jeun, à l'action d'un même dérivé thyroïdien. Nous constaterons qu'il n'y a pas d'accélération de métamorphose dans les groupes a, b, c, et d ; qu'il s'établit une métamorphose rapide dans les groupes e et f et

qu'enfin pour les groupes g et h la métamorphose se produit dans les délais normaux. On voit donc que, dans certaines conditions et pour une certaine dose, un certain état de différenciation est nécessaire pour que la réactivité du têtard se manifeste.

D'après Alphonse et Baumann (1933), si la thyroxine a une action très rapide, en ce qui concerne les phénomènes de la métamorphose, mais seulement à partir du stade de branchies externes, à ce moment cette substance ne provoque nullement une apparition plus précoce des ébauches des membres postérieurs, pas plus qu'une croissance accélérée de ces extrémités.

Lorsque l'action de la thyroxine se produit sur des têtards plus âgés, les membres postérieurs ont un allongement plus marqué, ainsi que Romeis (1923), l'a vu pour les membres antérieurs chez *Rana temporaria* ; mais la différenciation de ces ébauches, au moment de la métamorphose prématurée, n'est pas plus avancée que chez les témoins.

D'autre part, l'extrait n'agit pas non plus sur des individus trop âgés. En fait, à partir du moment où l'animal ne mange plus, où les membranes natatoires caudales commencent à regresser, où la bouche va muer, l'organisme semble réaliser toutes les conditions nécessaires et suffisantes du déterminisme de la métamorphose. L'administration de thyroxine devient une superfétation.

Sensibilité particulière des différents tissus

En 1929, Fontes et Aron démontraient que les lois de « minimum efficace » et de « seuils différentiels » établies par Pezard pour les hormones sexuelles, s'appliquaient également à l'action morphogénétique de la thyroxine lors de la métamorphose expérimentale des Anoures. Chaque organe réagit à une dose définie et l'effet ainsi obtenu n'est pas influencé par une concentration plus élevée. Chez les têtards âgés, tous les organes répondent simultanément à une certaine dilution : alors en quelques jours la métamorphose se réalise rapide, brutale, dysharmonique.

Les dilutions inférieures à 0,001 mg pour 100 cm^3 sont inefficaces. Les dilutions variant entre 0,001 mg et 0,005 mg. pour 100 cm^3 déclenchent uniquement la fonction glycogénique du foie (Aron). Entre 0,01 mg. et 0,05 mg pour 100, la thyroxine provoque seulement la poussée des pattes postérieures et les

premiers remaniements de l'intestin larvaire. Entre 0,05 mg. et 0,2 mg pour 100, on observe l'apparition des quatre membres, les transformations connues de la bouche, de l'intestin et du tégument, mais la queue reste intacte, ce qui donne au têtard d'Anoure la forme « Urodèle ». Enfin, les doses de l'ordre de 0,4 mg. à 2 milligrammes pour 100 déterminent en six à sept jours la métamorphose typique.

Aron a également montré que le déclanchement de la sécrétion pancréatique endocrinienne était sous la dépendance de la thyroïde.

Un peu plus tard, Champy et Rader (1931), constataient que les effets morphologiques ne dépendent pas seulement des doses de thyroxine, mais aussi de la répartition de zones sensibles, particulières, bien localisées ; elles n'apparaissent pas toutes en même temps, mais au cours du développement du têtard. Selon Champy, il existerait pour l'hormone thyroïdienne un seuil d'action. Ce seuil serait conditionné d'une part par la présence d'ébauches de divers tissus, et d'autre part, par la sensibilité différentielle de ces ébauches, variant d'une espèce à l'autre. Les zones réceptibles observées par Champy sont, par ordre de sensibilité décroissante, l'intestin spiral, les pattes, la vessie, les glandes cutanées.

Kollmann (1919), a insisté sur la sensibilité du système tégumentaire, de même Stefan Drzerwicki (1938), sur les têtards de *Pelobates fuscus*. Alphonse et Baumann, au contraire, ont souligné l'indifférence de la peau de jeunes têtards de *Bufo vulgaris* vis-à-vis de fortes doses de thyroxine.

Plusieurs théories permettent, jusqu'à un certain point de rendre compte de telles divergences. Il faut d'abord tenir compte de l'âge du têtard : en effet, chaque organe ne réagit qu'à une époque déterminée (O. Kuhn). La dose de thyroxine spécifique pour chaque tissu est également importante (Fontes et Aron). L'absence de corrélation entre organes et le manque d'harmonie de la métamorphose accélérée dépendent de ces facteurs. Mais ce sont les expériences de B.-M. Allen. surtout qui peuvent nous orienter vers une solution. Ce dernier fait remarquer qu'il est indispensable de tenir compte simultanément des deux facteurs âge et dose. Il établit que la réaction des organes en fonction de la dose et pour un âge donné peut s'exprimer par une courbe qui présente un sommet : l'optimum et les expériences d'Allen laissent même entrevoir une partie descendante.

Etalon

L'emploi d'un étalon de comparaison est nécessaire. Rogoff préconise l'emploi d'une préparation thyroïdienne obtenue en partant de thyroïdes de Bœuf desséchées délipidées et correspondant au produit A de l'hydrolyse alcaline décrite par Kendall. Cette préparation contient environ 1,48% d'iode. Elle est active à la dose de 7,5-10 milligrammes, en une fois, sur des larves de *Rana pipiens* longues de 6-8 millimètres. Mais en raison des variations possibles d'activité d'un échantillon à l'autre de cette préparation, il semble plus rationnel de se servir aujourd'hui de la thyroxine comme étalon.

Pratique de l'essai

Nous rapportons la technique de l'essai et les critiques qui lui ont été faites, suivant l'exposé de Blanchard, Penau et Simonnet (1932).

a) *Administration des produits à essayer.* — Dans le cas où l'on étudie des organes frais, on les débite en petits fragments de un centimètre cube que l'on place dans les récipients (en surplus de la ration de viande habituelle). Parallèlement, les jours d'administration des organes étudiés, on augmente, dans la même proportion, la ration de poudre de muscle des têtards conservés comme témoins. Lorsqu'on veut éprouver les poudres d'organes ou des extraits, on les ajoute à la ration normale de façon analogue, soit en suspension, soit en solution.

Faisons remarquer que lorsqu'elles n'ont pas encore de bouche, au moment où les branchies externes commencent à disparaître, les larves ne sont influencées dans leur développement que par des substances non colloïdales, telles que celles provenant de la digestion ou de l'hydrolyse de la substance thyroïdienne.

b) *Appréciation des effets.*

Effets sur la croissance. — Ces effets sont appréciés sur la taille, le poids ou le volume des animaux.

La taille est mesurée soit directement, soit sur photographie. Les paramètres observés sont la longueur totale du corps (de l'extrémité de la tête à l'extrémité de la queue), la longueur du tronc (de l'extrémité de la tête à la naissance de la queue) ou la largeur du tronc. La précaution la plus importante à prendre pour photographier les animaux est de les anesthésier préalablement par addition de quelques gouttes d'eau chloro-

formée. La prise doit être faite rapidement et en lumière diffuse. Les animaux sont replacés dans une nouvelle eau bien aérée.

La détermination du poids frais se fait au moyen de la balance de torsion, le têtard étant auparavant placé dans du papier-filtre.

Le volume d'un ou de plusieurs têtards est déterminé soit par déplacement d'eau dans un flacon de densité, soit par différence entre les pesées successives dans l'air et dans l'eau.

Effets sur le développement. — Ces effets s'apprécient pour les têtards d'Anoures, sur l'apparition des membres postérieurs qui naissent à la base de la queue, puis sur l'émergence des membres antérieurs qui jusque-là étaient cachés dans les chambres branchiales. On convient de dire que les animaux arrivés à ce stade ont subi la métamorphose. Rappelons que celle-ci n'est pas limitée à ces seules éruptions de membres.

Champy donne, comme critérium très sûr de la métamorphose, la régression de l'intestin spiral, phénomène précoce qui s'apprécie de la façon suivante : les animaux sont fixés au formol, déshydratés et éclaircis par l'huile de cèdre ; le phénomène est particulièrement visible chez *Rana esculenta.*

En ce qui concerne l'Axolotl, les effets sur le développement s'observent soit en tenant compte des modifications larvaires décrites par Zavadovsky et son école soit en poussant le traitement jusqu'à obtention de la forme terrestre.

c) *Expression des résultats.*

Les résultats pourraient être exprimés par le rapport des poids des doses ou des concentrations minimales efficaces de l'étalon employé et de la substance à titrer. Nous donnons à titre d'exemple, la description des deux méthodes suivantes :

Méthode de Gaddum

Les larves d'Anoures, de *Rana temporaria*, par exemple, provenant de la même masse d'œufs, recevant la même alimentation, présentant initialement les mêmes caractères pondéraux et dimensionnels, et placés dans les mêmes conditions de milieu extérieur, ne se développent pas identiquement et leur métamorphose ne s'achève pas dans le même délai. La méthode de dosage ne peut donc être que statistique et nécessite dès lors l'emploi de nombreux animaux.

Gaddum (1927), décrit une méthode de dosage basée sur la réduction de la longueur totale des têtards, méthode comportant l'emploi de nombreux sujets pour un seul essai, afin de minimiser les variations individuelles.

Les têtards de *Rana temporaria* provenant d'une même masse d'œufs sont aspirés, un à un, dans une pipette dont on laisse écouler l'eau après la prise. Quand le têtard est immobile et en extension, on porte la pipette contre une échelle millimétrique : on mesure alors la longueur totale de l'animal. Les animaux de même longueur sont placés par lots de douze dans un récipient contenant 500 cm^3 d'eau de source. La substance à essayer, préalablement dissoute dans le minimum de solution faible de carbonate de sodium, est ajoutée au liquide du récipient. Douze animaux, servant de témoins, sont placés dans de l'eau de source seule, car la faible quantité de carbonate de sodium employée pour dissoudre la substance à essayer est sans effet sur le développement des têtards lorsqu'elle est portée à la dilution finale employée. Au bout de 24-48 heures, les animaux sont séparés et lavés sur une passoire, puis replacés dans 500 cm^3 d'eau de source. Ils sont mesurés chaque jour par le procédé à la pipette et replacés, après lavage, dans une eau nouvelle contenant deux petits fragments bien durcis d'œuf de Poule.

Pour chaque substance à essayer, des concentrations différentes sont employées. Les résultats observés sont portés sur des graphiques dont les ordonnées représentent les moyennes des longueurs des animaux de chaque lot et dont les abscisses représentent soit les concentrations en substance exprimées en parties pour 10 millions de dilution finale, soit les jours écoulés depuis le début de l'essai, dans ce cas on construit une courbe pour chaque concentration de la substance essayée exprimée également en parties pour 10 millions de dilution finale.

Les résultats obtenus par Gaddum sont très intéressants et sa méthode donne une allure quantitative au titrage de l'activité des dérivés thyroïdiens basé sur l'emploi des têtards de Grenouilles. Les travaux de Gaddum montrent aussi que les têtards ne synthétisent pas la thyroxine lorsqu'on les met en contact avec un mélange de désiodothyroxine et d'iodure de potassium. Ils montrent également : 1° que la diiodothyronine possède sur le têtard une activité à peu près 40 fois moindre que la thyroxine ou tétraiodothyronine ; 2° que l'isothyroxine qui contient autant d'iode que la thyroxine est inactive à la concentration du dix-millième. De même, Lein en 1937, indi-

quait que l'iode renfermé dans la di-iodothyrosine est 300 fois moins actif que celui de la thyroxine ; et celui de l'iodure de potassium 5 fois moins encore que celui de la di-iodotyrosine.

On voit donc que l'iode possède le maximum d'activité lorsqu'il est à l'état de thyroxine.

Méthode de Kreitmair

Des Axolotls de 10 cm. de longueur sont choisis avec des branchies bien formées et des nageoires bien sorties. Ils sont nourris au moyen de viande crue hâchée, qu'on leur présente devant la bouche, en forme de petits cylindres, ayant 1 à 2 cm. de longueur. Ils sont isolés l'un de l'autre et maintenus à une température de 18° à 23° C.

L'administration du dérivé thyroïdien à essayer se fait par sondage gastrique, elle est effectuée quotidiennement. On peut aussi ajouter le dérivé thyroïdien à l'eau du cristallisoir qui contient l'animal, cette eau étant renouvelée chaque jour. L'expérience est suspendue si la métamorphose n'a pas lieu au bout de quatre semaines. Deux animaux sont employés pour chaque dose essayée.

La dose minimale effective d'un dérivé thyroïdien correspond à une unité Axolotl. On calcule le nombre d'unités Axolotl. contenues dans un gramme de ce dérivé.

Les résultats peuvent varier de $\pm$ 100 pour 100.

Une thyroïdine Merck essayée par Kreitmair contenait 100 unités Axolotl par gramme. Pour cette thyroïdine, l'unité correspondait à l'administration par jour de 5-10 milligrammes de thyroïde sèche et à 0,01265 mg. d'iode thyroïdien.

Kreitmair a constaté que les thyroxines commerciales étaient très inégalement actives, ainsi que l'indique le tableau suivant :

	1 Unité-Axolotl est contenue dans	Quantité minimale effective pour 1 litre d'eau
Thyroxine A.	1 mg.	10 mg.
Thyroxine B.	0,5 mg.	5 mg.
Thyroxine C, D, E.	0,01 mg.	0,1 mg.

Critique de Swingle

Dans un travail de 1924, Swingle met en doute la valeur du test basé sur l'accélération de la métamorphose. Il s'appuie sur trois ordres de faits :

1° La métamorphose des têtards est déterminée par des combinaisons iodées non spécifiquement thyroïdiennes ;

2° Ces combinaisons iodées, actives sur la métamorphose, n'ont pas d'action sur le métabolisme des Mammifères. C'est le cas de quelques protéines iodées (iodocaséine, iodosérum-albumine) et de la diiodotyrosine par exemple ;

3° L'acétylthyroxine, au contraire de la thyroxine, n'a pas d'effet sur le métabolisme des Mammifères. Or, l'acétylation porte, non sur l'iode, mais sur le groupe aminé de la thyroxine. Cependant, l'acétylthyroxine est très active sur la métamorphose des têtards thyroïdectomisés et hypophysoprivés.

Avec Swingle, et en tenant compte de la constitution de la thyroxine, on peut conclure que l'iode seul est nécessaire pour la métamorphose des amphibiens, alors que le groupe NH_2 paraît être seul responsable de l'action sur le métabolisme des Mammifères (même sans l'intervention de l'iode), le test sur les têtards serait sans valeur pour la recherche et le dosage des substances actives sur le métabolisme des Mammifères. Cependant, les travaux de Gaddum montrent que l'iode possède le maximum d'activité sur la métamorphose des Batraciens, lorsqu'il est engagé dans la molécule thyroxinienne. Or, on sait, d'autre part, que des dérivés thyroïdiens, la thyroxine possède sur le métabolisme gazeux des Mammifères l'action la plus marquée. Les conclusions de Swingle sont donc exagérées. Il semble, au contraire, que l'iode thyroïdien, tout au moins s'il est engagé sous forme de thyroxine, peut être titré biologiquement sur des larves de Batraciens, même lorsqu'il s'agit de déterminer la valeur thérapeutique d'un dérivé thyroïdien au point de vue de son action sur le métabolisme.

Mais le titrage biologique des dérivés thyroïdiens, basé sur leur action métamorphotique, présente le grave inconvénient, tout au moins en ce qui concerne l'emploi des têtards d'Anoures, de ne pouvoir être effectué qu'en une période très courte de l'année.

CHAPITRE X

FACTEURS ENDOCRINIENS : L'HYPOPHYSE

Tétards hypophysectomisés, Tétards normaux, Axolotls, Déterminisme de la métamorphose

Têtards hypophysectomisés

L'hypophysectomie totale est relativement facile chez les larves d'Amphibiens. Chez les larves de Grenouille de quelques millimètres de longueur, l'ébauche de l'hypophyse glandulaire apparaît au microscope entre la voussure du cerveau antérieur et celle du pharynx. Elle est située sous la face ventrale du cerveau. On peut se contenter de cautériser simplement la région hypophysaire (Adler, 1914). Mais il est préférable de suivre une technique rigoureuse (Smith, Allen, 1916), qui permet d'extirper l'ébauche hypophysaire sans léser les organes voisins.

Après cette ablation, on observe les troubles suivants : albinisation des sujets ; arrêt de croissance ; arrêt de la métamorphose ; atrophie progressive de la thyroïde, des parathyroïdes et du cortex surrénal ; hypertrophie du corps adipeux et persistance de cet organe même après le jeune.

L'administration prolongée *per os*, de substance antéhypophysaire de Bœuf augmente la croissance des têtards hypophysectomisés. De façon plus assurée encore, les injections corrigent tous les troubles résultant de l'hypophysectomie : elles repigmentent les têtards, accroissent leur taille, réduisent le corps adipeux, restaurent complètement la thyroïde et les corps interrenaux, permettent la métamorphose. L'action est d'autant plus rapide que les injections sont plus précoces.

L'ensemble de ces résultats n'est obtenu qu'en employant la partie centrale du lobe antérieur de Bœuf, partie très riche en cellules basophiles. La couche externe, au contraire, qui ne contient guère que des cellules oxyphiles, agit sur la croissance, mais ne répare pas l'atrophie thyroïdienne (Smith et Smith, 1923).

Les suspensions de la *pars nervosa* ou de la *pars intermedia* se bornent à agir sur le corps graisseux qu'elles réduisent et sur l'albinisme qu'elles font disparaître. Les suspensions de la colloïde provenant de la fente interglandulaire de certaines hypophyses de Bœuf, ne provoquent qu'une légère repigmentation.

Tous les extraits d'antéhypophyse sont inertes sur les têtards à la fois éthyroïdés et hypophysectomisés.

Têtards normaux

Pratiquée dans des conditions identiques à celles qui viennent d'être décrites pour les têtards hypophysectomisés, l'injection de suspension antéhypophysaire à des larves normales, détermine un accroissement de la taille et du volume. Après deux à trois mois, les animaux traités sont environ deux fois plus volumineux que les témoins. Il n'y a pas à proprement parler d'hypertrophie thyroïdienne, c'est-à-dire que le poids et le volume relatifs de la thyroïde n'augmentent pas. La métamorphose des larves soumises aux injections n'est, d'ailleurs, pas plus précoce que celle des témoins. (Smith et Smith, 1923).

Par contre, d'après Grab (1932), le sang des animaux traités par l'antéhypophyse accélère la métamorphose des têtards.

Axolotls

L'influence des préparations antéhypophysaires sur les larves d'*Amblystomum tigrinum*, a été étudiée par Smith et Smith (1922), Huxley et Hogben (1922), Hogben (1923), Spaul Smith (1926), etc...

Les expériences les plus concluantes sont celles de Schwartzbach et Uhlenhuth (1926-1933). D'après ces auteurs, des injections intrapéritonéales d'un extrait chimique du lobe antérieur de l'hypophyse de Bœuf, pratiquées chez un Axolotl, ne tardent guère à provoquer sa métamorphose en Amblystome, à condition, toutefois, que l'animal soit porteur de sa propre thyroïde, insuffisante par elle-même, mais que vient

activer l'extrait hypophysaire. Si on enlève la thyroïde à l'axolotl, l'extrait hypophysaire est sans action.

Les extraits hypophysaires suivant leur origine et leur mode d'administration possèdent encore des propriétés très intéressantes relatives au pouvoir de régénération des Amphibiens (Hanko, Romeis, Schotte, Kabak, Belkin, etc...), et à leur système pigmentaire (Smith, Allen, Atwell, Swingle, Mac Cord, Millot, Peredelsky et Blacker, Crisan, Vilter, etc...). Nous n'entrerons pas dans le détail de ces recherches dont l'exposé dépasse manifestement le cadre pharmacodynamique que nous nous sommes tracés. Il en est d'ailleurs de même pour ce qui concerne le déterminisme de la métamorphose, déterminisme que nous n'allons sommairement décrire que dans la mesure où sa connaissance peut être utile au pharmacologiste.

Déterminisme de la métamorphose

D'après toutes les expériences que nous avons rapportées précédemment, on voit que la métamorphose est déterminée par une influence humorale, celle d'une hormone élaborée par une glande à sécrétion interne qui est la glande thyroïde. C'est donc uniquement pour mémoire que l'on peut citer l'opinion des anciens auteurs considérant la métamorphose comme la conséquence de la privation de nourriture (Barfurth) ou de phénomènes asphyxiques (Bataillon).

C'est au moment où la glande thyroïde commence à fonctionner et à déverser son hormone dans le milieu intérieur que la métamorphose se déclanche. Mais l'entrée en jeu de la thyroïde est, elle-même, inféodée à celle du lobe antérieur de l'hypophyse (Adler, Allen, Smith, etc..), et conditionne à son tour la sécrétion interne du pancréas (Aron). Ce concert endocrinien admet-il d'autres participants, les parathyroïdes, les surrénales ? C'est là une possibilité que l'on ne doit ni exclure ni accepter avant qu'une démonstration formelle en ait été apportée. Toujours est-il que la métamorphose apparaît aujourd'hui comme l'institution d'un nouvel équilibre humoral auquel plusieurs glandes à sécrétion interne apportent simultanément leur tribut. Aron a pu établir que même chez les Mammifères, on assiste pareillement au cours de la vie embryonnaire, au déclanchement simultané de l'activité excrétrice de la prehypophyse, de la thyroïde, des îlots pancréatiques, et, si cette étape n'est pas marquée par des bouleversements évolutifs

profonds comme chez les Anoures, on est fondé néanmoins, à y voir la réplique du phénomène essentiel qui domine la métamorphose et qui en détermine les effets si divers selon les ordres et les classes.

Quant au mécanisme d'action de l'hormone thyroïdienne, il semble résider, au moins pour une part, dans la sensibilité différente que les divers tissus ou organes offrent à son influence, et qui se traduit par une crise de prolifération cellulaire chez les uns, et, au contraire, par un arrêt de développement ou une involution chez les autres.

Enfin, il nous suffira de mentionner le rôle que l'on doit attribuer au système nerveux dans la croissance et pour lequel nous renvoyons aux travaux de Mlle Locatelli, Max Aron, etc...

CHAPITRE XI

FACTEURS ENDOCRINIENS AUTRES QUE LA THYROIDE ET L'HYPOPHYSE

Epiphyse, Thymus, Rate, Surrénales, Pancréas, Glandes génitales

En dehors de la thyroïde et de l'hypophyse, un certain nombre d'organes à excrétion interne ou d'extraits de ces organes ont été expérimentés sur les larves de Batraciens.

Epiphyse

Adler en 1914, détruisit au thermocautère la glande pinéale sur un nombre considérable de têtards (350). Beaucoup moururent immédiatement, cent survécurent quatre jours ; trente, huit jours et neuf seulement, quelques semaines. Les larves survivantes ne présentèrent rien d'anormal. R. et M. Hoskins (1919), confirment ces résultats et notent d'ailleurs qu'ils ont constaté une régénération rapide de l'épiphyse. Atwell rapporte que la pinéalectomie pratiquée sur des têtards de 8 mm. ne modifie pas leur pigmentation.

L'ingestion de glande pinéale ne détermine aucune accélération de la métamorphose, mais une légère augmentation de poids, décrite par Mac Cord, Addair et Chidester (1928), Groebbels et Kuhn, et que Roux évalue à 10% chez les têtards de Grenouille. Roux a également noté, après l'ingestion d'épiphyse une rétraction des chromatophores déjà observée par Mac Cord et Allen (1917). Calvet (1934), alimentant des têtards d'*Alytes* en période hivernale avec de l'épiphyse fraîche

de Veau n'a constaté aucun phénomène anormal d'évolution.

Holldobler et Schultze, après implantation d'une parcelle de glande épiphysaire de Bœuf dans la racine caudale de larves de Crapaud, ont retrouvé l'augmentation de poids précédemment signalée. Par contre, les expériences de Romeis sont restées négatives. Vialli, en 1931, a confirmé qu'aucune modification de la métamorphose ne se produit chez les larves d'Amphibiens auxquelles on greffe un fragment d'épiphyse de Veau ou de Lapin. Enfin, Dodel et Dastugue (1938), expérimentant avec de l'épiphyse desséchée (0,02 g. pour 500 cm^3), ont retrouvé à leur tour la légère augmentation de poids et l'influence nulle sur la métamorphose déjà notées par les précédents auteurs.

Thymus

Guddernatsch (1917), Uhlenhuth (1919), Groebbels (1922), ont observé, qu'en nourrissant des têtards avec du thymus on obtenait simultanément une accélération de croissance et un retard de métamorphose. Guddernatsch a pu préciser le mécanisme de cette double action par le fait que certains extraits renfermant les lipides de l'organe retardent la métamorphose sans accélérer la croissance, tandis que les extraits dégraissés hâtent la croissance sans influencer la métamorphose.

Romeis (1925), a signalé, un peu plus tard, que sous l'influence d'un régime exclusivement thymique, s'établissent des déformations correspondant à un développant aberrant. Mais il s'agit là non d'une action endocrine spécifique, mais d'une carence alimentaire, les symptômes disparaissant par l'adjonction de feuilles vertes à l'alimentation thymique.

Par l'action prolongée, *per os*, de thymus frais ou d'extrait total sec, Uhlenhuth a obtenu une action tetanigene sur des Salamandres dépourvues de parathyroïdes.

Rate

L'influence de la rate sur la croissance des larves de Salamandres a été étudiée par Kostitck (1938). Dans ce but, un premier lot d'animaux était soumis à la splenectomie, le second nourri avec de la rate fraîche, le troisième servant de témoin. Tous les individus appartenaient à la même portée. Les résultats de ces expériences ont montré de façon manifeste, qu'il existe un retard de croissance chez les animaux splenectomisés.

tandis, qu'au contraire, les animaux hypersplenisés croissent plus vite que les témoins et surtout, que les animaux splenectomisés.

Surrénales

En traitant des larves d'Axolotl par de la corticosurrénale à raison de 0,05 g. tous les deux jours, Eskin (1932), déclanche une métamorphose incontestable avec réduction des nageoires dorsales et caudales, des rayons et feuillets branchiaux, la saillie des yeux et la pigmentation habituelle. Les résultats ont été identiques en réduisant la dose dans d'autres séries à 0,03, puis 0,01 g. L'étude des thyroïdes des animaux d'expérience a montré tous les caractères d'une stimulation de l'épithélium, augmentation des cellules et des noyaux, vacuolisation de la colloïde, etc... Il semble donc que l'action de la corticosurrénale s'opère par l'intermédiaire de la thyroïde.

Par contre, avec 0,001-0,01 g. de medullosurrénale, il n'a été constaté aucun effet. De même, avec l'adrénaline à 2.10-6, Bilsky (1921), Farkas et Taugit (1925), obtiennent une accélération de la croissance, mais des résultats fort dubitatifs vis-à-vis de la métamorphose.

Nous plaçons ici un travail d'Atwelle (1937), relatif à une hypertrophie des surrénales et à une augmentation considérable de leur teneur en substance osmiophile, après administration d'extrait adrenotropique, chez des têtards hypophysectomisés et thyroïdectomisés.

Pancréas

L'action de l'insuline sur les têtards de *Rana temporaria* et de *Pelobates fuscus*, a été étudiée par Kroszczynski en 1924. Les têtards de *Rana temporaria*, en présence de huit unités d'insuline dans 20 cm³ d'eau à la température ordinaire, ne présentent aucun phénomène caractéristique dans les quatre ou cinq premières heures. Mais après ce temps, les animaux deviennent de plus en plus agités, tandis que la réaction produite par excitation mécanique s'affaiblit, peu à peu. Pendant les 12-16 heures suivantes, la mobilité continue à diminuer, les animaux presque inexcitables restent immobiles au fond du vase, mais ils sursautent à la suite d'un choc sur la table. Après environ 16 heures d'action les têtards montrent des troubles d'équilibre et des tremblements convulsifs passant rapidement

de la tête à la queue. Les têtards deviennent de plus en plus somnolents pour tomber après 22-26 heures dans un coma très profond, avec inexcitabilité complète, même si on perce la queue à l'aide d'une épingle. Après un temps plus ou moins long les animaux succombent.

Les têtards de *Pelobates fuscus* traités par 25-32 unités d'insuline dans 40 cm³ d'eau se comportent d'une manière analogue.

Des doses d'insuline moindres que celles indiquées ci-dessus, provoquent des symptômes relativement plus faibles avec un retour régulier à l'état normal après 24-30 heures, bien que les têtards demeurent dans la solution d'insuline.

L'injection sous-cutanée agit beaucoup plus vite. Ainsi les têtards de *Pelobates fuscus* ayant reçu en injection 0,02-0,03 cm³, c'est-à-dire 0,4-0,6 unités d'insuline, tombent dans le coma déjà après 3-5 heures.

L'action typique apparaîtrait donc au bout d'un temps double de celui qu'on observe chez l'animal à sang chaud ; ainsi les têtards seraient bien plus sensibles à l'action de l'insuline que les Batraciens en général, et leur susceptibilité se rapprocherait davantage de celle des Mammifères.

L'action tardive chez les têtards séjournant dans une solution d'insuline serait due, sans doute, à la pénétration lente de l'insuline dans les tissus de l'animal. En faisant l'expérience à l'étuve à 30°-32°, on peut avancer de 6-8 heures les symptômes chez les têtards de *Rana temporaria.*

Les têtards en état de coma traités par une solution de glucose à 0,5-1 pour 100, se réveillent après 15-30 minutes, ils nagent en accusant cependant des troubles d'équilibre. Après 20-30 minutes, ils deviennent de nouveau immobiles et cessent de réagir à l'excitation. De cet état, ils reviennent peu à peu à l'état normal après environ 12-16 heures.

L'adrénaline à la concentration de 1/60-40.000 ne préserve pas les têtards en état de coma.

L'extrait d'hypophyse (0.75 cm³ de pituiglandol Roche dans 20 cm³ d'eau), empêche complètement l'action de l'insuline sur les têtards de *Rana temporaria.* De même que l'addition de 0,00075 pour 100 de sulfate d'atropine à la solution d'insuline empêche l'état de coma et la mort, même si on n'ajoute l'atropine qu'après l'apparition de la perte d'équilibre.

Par contre, l'addition de 0,00075 pour 100 de pilocarpine ou de physostigmine avancerait l'état de coma provoqué par l'insuline.

Glandes génitales

Les dérivés testiculaires et ovariens étudiés par Abderhalden ne lui ont donné que des résultats très irréguliers vis-à-vis de la croissance des têtards et négligeables en ce qui concerne les phénomènes de métamorphose. Meschini cependant, en 1928, aurait obtenu des expériences positives (accélération de la métamorphose sans inhibition de la croissance), avec du tissu ovarien de poule couveuse.

Louis Gallien (1938-1941), étudie une race indifférenciée de *Rana temporaria*. A partir d'une même ponte, trois lots de têtards sont considérés et élevés dans des conditions identiques.

Le premier lot, servant de témoin, permet d'établir le caractère indifférencié de la race en cause.

Le deuxième, reçoit du propionate de testosterone : tous les têtards sont mâles.

Le troisième reçoit du benzoate d'hydrofolliculine, tous les têtards sont femelles.

Par contre, quelque temps auparavant, Padoa (1936) avait obtenu dans des expériences du même type, quoique légèrement différentes, des résultats que l'auteur qualifie lui-même de paradoxaux : des têtards de *Rana esculenta* se développent depuis l'âge de 10 jours dans une eau renfermant, suivant les lots, de 8.000 à 40.000 unités internationales de folliculine par litre d'eau. Sur 40 têtards en expérience, 36 survivent et sont examinés après 60 jours : tous sont mâles. En réalité, comme Gallien y a insisté par la suite, la nature du solvant (eau ou huile) et le mode d'administration ont une influence considérable sur le résultat de l'expérience et peuvent rendre compte des contradictions observées.

Ajoutons, pour mémoire, une expérience de G. Rostand (1931), d'après laquelle l'urine de jeune enfant provoquerait sur les larves de Batraciens une exagération de la pigmentation, un accroissement de poids et un retard de la métamorphose, triple action que l'auteur rapporte à un facteur hormonal.

Citons, enfin, l'influence des extraits placentaires qui comme celle de la plus part des extraits tissulaires est très irrégulière et regarde surtout la croissance sans intéresser la métamorphose.

CHAPITRE XII

AUTRES EXTRAITS D'ORGANES

Extraits organiques, Extraits tissulaires,
Extraits embryonnaires, Venins de serpents.

Extraits organiques

L'écorce cérébrale du Bœuf a un faible pouvoir métamorphosant sur les têtards. Le pouvoir de la région hypothalamique est plus grand, vraisemblablement parce que cette région renferme une plus grande proportion d'iode (Pighini, 1938). L'auteur rapporte, d'ailleurs, l'action métamorphosante du cerveau à la présence d'hormone thyroïdienne.

Dadlez et Koskowski ont isolé des poumons, en 1931, une substance capable d'accélérer la métamorphose des têtards de Grenouille.

Alimentant des têtards avec des tissus et des extraits tonssillaires, Pejic (1932) a obtenu un retard de la croissance et de la métamorphose. Bruno Ricci (1933) alimente également des têtards avec des amygdales et constate que la croissance et la métamorphose sont retardées par rapport à un lot témoin nourri à l'albumine d'œuf. Le retard de développement porte, en outre, sur les glandes à secrétion interne et l'examen microscopique révèle un retard très net dans la différenciation. Pour Riccitelli (1933), les extraits de prostate accélèreraient la métamorphose des têtards.

Extraits tissulaires

Belehradek a montré, en 1922, que les têtards de la Grenouille rousse, nourris avec des muscles de la même espèce animale,

croissent d'autant mieux et se métamorphosent d'autant plus vite que les muscles avaient été plus fatigués. Cette action stimulatrice n'est pas détruite par l'ébullition. Elle n'est pas due à la présence de l'acide lactique ou de la créatine. Elle n'est pas spécifique. Comme explication à ce phénomène, on peut admettre que des corps chimiques non définis se forment au sein du muscle pendant le travail et qu'ils agissent en tant que parhormones stimulant l'anabolisme. Ces expériences ont été par la suite, confirmées par les recherches de Siebert et Petow (1925), et Siebert (1928). De nouveaux résultats fournis par Belehradek et Stoklasa (1930), n'ont pas permis d'établir de différence appréciable entre l'action favorisante produite par des muscles tétanisés isotoniquement ou isométriquement.

Kopec (1933) s'est posé la question de savoir si l'administration des tissus d'organisme mort d'inanition était capable d'exercer un effet sur le développement des animaux.

Les expériences ont porté sur trois lots de têtards de *Rana temporaria L.* (1.710 individus au total). Le cinquième jour après leur éclosion les têtards de chaque lot étaient divisés en trois portions égales et mis dans des récipients égaux. Dans chaque expérience, un groupe était nourri chaque jour avec des tissus de jeunes Rats blancs morts d'inanition, le deuxième groupe recevait un jour des tissus de Rats normalement nourris, le lendemain des tissus d'individus inanitiés, le troisième groupe (témoins) étant chaque jour alimenté avec des tissus de Rats recevant de la nourriture. Toutes les expériences furent interrompues après 21 jours, à cause du canibalisme que l'on commençait à observer dans tous les groupes.

Les Rats, soumis à l'inanition, étaient privés de nourriture et d'eau. Ils étaient isolés dans des cages métalliques, près d'un poêle chauffé. La mort survenait, en général, la nuit, après deux à cinq jours et demi (en moyenne après 85,3 heures) la chute du poids corporel atteignant 15,5-50 pour 100 du poids initial. Ont été utilisés comme aliments pour les têtards, le cœur, les intestins, les poumons, le foie, le pancréas, les reins et les muscles, découpés en morceaux et broyés dans un mortier avec tout le sang obtenu des mêmes animaux. Cette nourriture était préparée et administrée aux têtards immédiatement après la mort du Rat. Quand il n'y avait pas de Rat mort le jour même, on donnait des tissus d'animaux morts un ou deux jours auparavant et conservés à l'obscurité dans une glacière.

La nourriture des témoins était préparée de la même manière que les organes des Rats morts d'inanition. Les têtards étaient nourris une fois par 24 heures, l'aliment leur étant administré en excès.

La longueur du corps des têtards, c'est-à-dire la distance entre la partie antérieure de la tête et le bout de la queue, était prise comme mesure du développement. Tous les têtards anesthésiés à l'éther et sortis de l'eau (la partie dorsale en haut), sur du papier filtre, étaient mesurés au moyen d'un compas au cours du 22e jour de l'expérience. Il n'y a pas de différences uniformes et essentielles au point de vue biométrique entre les longueurs du corps dans les trois groupes. On peut dire la même chose quant au coefficient de variabilité de cette dimension et au pourcentage de mortalité. Par conséquent, tout au moins dans les conditions rapportées ci-dessus, l'action défavorable des substances du métabolisme du jeûne complet ne pouvait pas être constatée. Cette conclusion concerne l'alimentation « hétérologue ».

On pourrait objecter à cette conclusion que les tissus étant mis dans l'eau, les substances toxiques diluées ne pouvaient pas être absorbées par les têtards. Cette objection ne serait cependant pas justifiée, la nourriture étant prise le plus souvent immédiatement après la distribution. D'autre part, comme nous l'avons déjà signalé, certains auteurs ont indiqué un accroissement de longueur du corps chez les têtards soumis au jeûne. Mais cette augmentation n'a toujours été que passagère et peu sensible, aussi l'auteur pense-t-il que ses expériences ayant duré trois semaines, l'action toxique des tissus des Rats inanitiés, si elle avait été réelle, aurait certainement pu se manifester.

Extraits embryonnaires

Expériences de P. Carnot (1923). — Une centaine de têtards de même origine, longs de 10 mm. environ, ont été répartis au hasard dans des cristallisoirs de même taille et nourris uniformément de tapioca. Pendant un mois de traitement et pour chaque lot de 10 têtards, la moyenne des tailles de régénération caudale après section, l'apparition des pattes postérieures et le pourcentage de mortalité étaient soigneusement notés.

Les témoins ont présenté un développement médiocre et ralenti, avec une mortalité considérable (90%) ; ils mesuraient

après un mois, 21 mm. Il n'y a eu aucune apparition de pattes. Tous les têtards à queue resequée sont morts avant un mois (on n'a donc pas pu mesurer la régénération caudale). Après traitement par la poudre de *thymus embryonnaire*, on obtient une bonne croissance et pas de mortalité. La taille moyenne a été de 29 mm. La repousse de la queue a été bonne (9 mm.). Mais aucun développement des pattes.

Un lot traité tous les deux jours par des *extraits glycérinés d'embryons de Cobaye* a eu une croissance encore meilleure. La taille a atteint 31 mm. La repousse de la queue a été de 8 mm. Pas de développement des pattes.

Des résultats analogues ont été obtenus avec un *extrait glycériné d'embryons de Poulet.* Avec la *poudre d'embryons de Mouton* (de moins de 10 et 5 mm.), la croissance est encore meilleure et l'on assiste à l'apparition des membres postérieurs.

De ces expériences, on peut conclure que, dans les circonstances défavorables de nutrition où l'on avait placé systématiquement tous les lots de têtards, les extraits embryonnaires ont activé le développement de façon considérable.

P. Carnot a encore présenté à la Société de Biologie en 1926 une série de lots de têtards traités par divers extraits embryonnaires et dont la croissance était très supérieure à celle des témoins.

Les lots de têtards, de même provenance, étaient nourris les uns et les autres avec des grains de semoule et des feuilles vertes (plantes aquatiques, vigne vierge, menthe) ; cette nourriture donne lieu à un développement restreint et retardé qui permet de saisir facilement les influences favorables : elle n'entraîne pas d'autre part, une mortalité élevée.

Les lots de têtards qui ont reçu tous les deux jours, ajoutée à l'eau du cristallisoir, de la poudre desséchée dans le vide d'embryon de Veau ou de Mouton, prennent rapidement une avance considérable et leur taille est bientôt le double de celle des témoins : après un mois, le poids d'un même nombre de têtards (12) est plus que triplé pour les animaux traités par rapport aux témoins (4,9 g., au lieu de 1,5 g.). Les extraits glycérinés donnent de très fortes croissances, mais avec des inégalités d'un animal à l'autre qui n'existaient pas avec la poudre d'embryon. (Peut-être sous l'influence de la glycérine).

Par contre, les animaux traités par les extraits chauffés

(100°), se sont comportés comme les témoins et n'ont pas bénéficié du traitement.

L'espèce animale utilisée n'a pas, semble-t-il, une influence considérable : les extraits embryonnaires de Veau, Mouton, Chien, Poulet, se sont montrés les uns et les autres actifs. Cependant, avec les organes fœtaux déjà bien différenciés, on peut encore obtenir des accélérations de croissance notables : l'extrait de poumon fœtal de Chien s'est même montré supérieur à cet égard à l'extrait hépatique fœtal de même provenance.

Il ne semble pas, par contre, que les extraits fœtaux aient une grande influence sur l'accélération de la métamorphose. L'auteur attribue cette accélération de la croissance à des facteurs de nature encore inconnue qu'il a appelé « cytopoietines » et qu'il rapproche de certaines vitamines d'une part, d'autre part des trephones.

Venins de serpents

S. Ledebt a abordé l'étude des venins de Serpents d'après leur toxicité vis-à-vis des têtards de Grenouille. Toutes les expériences étaient faites en présence d'eau distillée. Le venin de Cobra entraîne la mort par paralysie : on observe la persistance prolongée des battements cardiaques après cessation de la respiration et de tout mouvement. Les têtards soumis une première fois à l'action du venin de Cobra, se montrent ultérieurement plus sensibles aux effets nocifs de ce poison : il y a hypersensibilité sans que l'on puisse préciser qu'il s'agisse d'un phénomène d'anaphyloxie.

Le venin de Daboïa est dix à douze fois moins toxique que celui de Cobra. Il détermine des hémorragies surtout visibles au niveau de la nageoire caudale. La mort se produit assez brusquement ; le cœur s'arrête presque en même temps que les mouvements respiratoires.

Les venins de Crotale, de Botrops, de Vipère Ceraste sont beaucoup moins toxiques encore.

La toxicité des venins étant beaucoup plus grande dans l'eau redistillée que dans l'eau de conduite, l'auteur a cherché à savoir si ce phénomène n'était pas dû à la présence des sels dissous dans l'eau potable. Si l'action antagoniste du sodium et du potassium est nulle, celle du magnésium et du baryum très faible, celle du strontium est notable, et celle du calcium très forte. Ainsi le calcium en modifiant la perméabilité des

membranes s'opposerait à la pénétration des venins. Un sérum antivenimeux est capable de neutraliser le venin qui a servi à le préparer.

Le cholesterol a une action antagoniste nulle ou très faible, sauf vis-à-vis du venin de Daboïa.

Bien que la lysocithine soit une substance bien définie, il nous paraît logique d'exposer en corollaire à l'action des venins, les expériences entreprises à son sujet par le même auteur.

D'après S. Ledebt (1914), la lysocithine est un poison très violent pour les têtards. Sa toxicité n'est nullement influencée par les sels minéraux ou le sérum antivenimeux. Cependant, tout sérum suivant sa teneur en cholestérol peut exercer une certaine action protectrice. Signalons encore des recherches entreprises avec le venin de *Vipera aspis* (G. Dastugue et Mme Darraud, 1941).

CHAPITRE XIII

NARCOTIQUES

Têtards et colorants vitaux, Narcose des têtards et coefficient de partage, Narcose des têtards et phénomènes d'oxydation, Narcose des têtards et tension superficielle, Sensibilité des têtards suivant leur stade de développement, Sensibilité des têtards aux solutions éthérées, Influence de la narcose sur le développement des têtards, Narcose, motilité et développement

Parmi les auteurs qui se sont préoccupés des phénomènes de narcose, un grand nombre ont effectué leurs recherches sur les larves de Batraciens. Nous n'avons pas ici à entreprendre un exposé même sommaire des théories de la narcose ; notre tâche se limite au rappel analytique des principales expériences entreprises de ce point de vue sur les têtards.

Têtards et colorants vitaux

On sait que Hans Meyer et Overton (1895) ont essayé d'expliquer l'action des anesthésiques généraux et des narcotiques par le fait que ceux-ci sont solubles dans les lipides (ou tout au moins absorbés par eux). La pénétration des narcotiques dans les cellules notamment dans celles dont la périphérie est particulièrement riche en lipides, comme c'est le cas pour les cellules nerveuses, serait donc conditionnée par la solubilité de telles substances dans ces phases lipidiques. Or, en plongeant des têtards soit dans des solutions aqueuses de diverses matières colorantes, soit dans des solutions aqueuses de certains anesthésiques ou hypnotiques, on a constaté que

seuls pénétraient dans les tissus nerveux et les coloraient, les colorants basiques et leurs sels ; d'où le nom de colorants vitaux donnés à ces matières colorantes : bleu de méthylène, thionine, safran, etc...

D'autres matières colorantes, telles que le carmin d'indigo, la nigrosine, l'induline, essayées dans les mêmes conditions, n'ont pas la propriété de colorer la cellule vivante, mais seulement de teindre les tissus morts. Or, il se trouve que ces colorants non vitaux sont insolubles dans les lipides alors que les couleurs basiques le sont.

Narcose des têtards et coefficient de partage

On sait de plus que Berthelot et Jungfleisd ont montré que lorsque un corps est mis en présence de deux solvants non miscibles tels que l'eau et l'huile, il se partage entre ces deux liquides suivant un certain rapport qui est précisément déterminé par son degré de solubilité dans chacun de ces deux liquides. C'est la loi du coefficient de partage.

Or, si nous admettons qu'un tel phénomène puisse donner une image grossière de ce qui passe dans l'organisme lorsque le narcotique dissous dans la phase aqueuse de sérum se trouve en présence de la phase lipidique des cellules, nous allons trouver en nous servant encore des têtards, une preuve expérimentale de l'exactitude relative d'une telle interprétation.

Hans Meyer et Overton ont, en effet, recherché les concentrations moléculaires les plus faibles amenant la narcose des têtards de Grenouille et constaté un parallélisme remarquable entre les chiffres ainsi obtenus et le coefficient de partage.

Substance employée	Coefficient de partage	Concentration moléculaire amenant la narcose
Trional	4,46	0,0013
Tetronal.....	4,04	0,0018
Sulfonal.....	1,11	0,006
Hydrate de bromal.	0,7	0,002
Hydrate de chloral...	0,22	0,025
Ethyluretane.....	0,14	0,025
Alcool éthylique ...	0,03	0,5

Selon Baum (1899), si l'on ordonne, d'après leur activité narcotique sur les têtards, un certain nombre de substances chimiques, on constate que cet ordre varie en général, dans le même sens que le coefficient de partage entre l'eau et l'huile d'olive.

Hans Meyer (1927), s'est également préoccupé de l'influence de la température sur le coefficient de partage et la narcose. Quand en portant la température de 3° à 30°, le coefficient de partage s'accroît (hydrate de chloral), le seuil de l'action narcotique est plus bas à 30° qu'à 3°. On le démontre facilement en anesthésiant légèrement avec de l'hydrate de chloral des têtards maintenus dans un milieu à 30°. Si ensuite la température du milieu extérieur descend brusquement à 3°, les têtards se réveillent et bougent. Réchauffons rapidement le milieu à 30° ils s'endorment de nouveau.

Quand, au contraire, le coefficient de partage est plus faible à 30° qu'à 3° (amide salicylique), il faut une dose plus forte pour amener la narcose à 30° qu'à 3°.

Substance employée	Seuil d'action narcotique exprimé en dilution de la solution normale		Coefficient de partage	
	à 3° C.	à 30° C.	à 3° C.	à 30° C.
Alcool éthylique	1/3	1/7	0,024	0,046
Hydrate de chloral. . .	1/50	1/250	0,053	0,236
Acétone.....	1/3	1/7	0,140	0,195
Amide salicylique.....	1/1300	1/600	2,23	1,40
Amide benzoïque.....	1/1500	1/200	0,67	0,43
Monacetine.....	1/90	1/70	0,093	0,066

Pour Unger (1918), la température influencerait dans le même sens le coefficient de partage et l'action narcotique sur les têtards du chloral et de la salicylamide.

Opérant avec la benzamide et la salicylamide sur des têtards, Bierich (1919), constate une augmentation de l'activité parallèle à l'augmentation de la température, sans aucune relation avec le sens de déplacement du coefficient de partage huile/eau. Remarquons que Bierich utilisait l'huile de foie de morue au lieu de l'huile d'olive.

Collett a vu que dans le cas des mouvements natatoires des têtards de Grenouille et de Crapaud, la règle de Hans Meyer

était exacte pour l'hydrate de chloral à toutes les concentrations mais seulement aux faibles concentrations pour les amides benzoïque et salicylique.

Narcose des têtards et phénomènes d'oxydation

Dans un autre ordre d'idées, Warburg a souligné l'étroit parallélisme qui existe entre la concentration en moles ou molécules grammes par litre nécessaire pour produire la narcose des têtards d'après Overton et la concentration en moles empêchant l'oxydation (d'après Warburg).

Substance employée	Concentrations en moles par litre		
	Empêchant l'oxydation d'apr. Warburg	Amenant la narcose des têtards d'après Overton	Pour des solutions isocapillaires d'après Traube
Alcool méthylique.....	5,0	0,57	14,0
Alcool éthylique	1,6	0,29	5,0
Dimethylurée.....	1,4		
Méthylurethane.....	1,3	0,27	10,0
Acétone.....	0,9	0,26	5,2
Alcool propylique.....	0,8	0,11	1,6
Diethylurée	0,52		
Propionitrile.....	0,36		1,6
Ethylurethane.....	0,33	0,033	4,0
Alcool butylique.....	0,15	0,038	0,45
Alcool isobutylique.....	0,15	0,045	0,46
Alcool isoamylique.....	0,045	0,023	0,14
Hydrate de chloral.....	0,012	0,006	
Thymol.....	0,0007	0,0001	

Narcose des têtards et tension superficielle

Il existe, en outre, un certain degré de parallélisme entre ces valeurs et la concentration moles par litre selon Traube, pour les solutions isocapillaires, c'est-à-dire montant à la même hauteur dans un tube capillaire. Si l'on fait abstraction des urethanes, il y a une meilleure concordance entre l'ascension capillaire d'après Traube et le seuil de concentration nécessaire pour la narcose, d'après Overton, qu'entre celui-ci et le coefficient de partage (1913).

Substance employée	Ascension capillaire de la solution M/4 à 15° (Eau=91,5 mm) d'après Traube	Concentration amenant la narcose des têtards en moles par litre d'après Overton	Coefficient de partage d'après Overton
Alcool méthylique.....	88,6	0,57	50/∞
Alcool éthylique	84,0	0,29	1/30
Acétone.....	80,85	0,26	peu sol./∞
Acetaldoxime.....	83,5	0,12	
Alcool propylique.....	74	0,11	1/8
Methyl éthylcetone.....	72,85	0,09	∞/5
Acétate de méthyle.....	75,80	0,08	4/1
Ether éthylique.....	67,2	0,07	4,5/1
Dimethyl éthylcarbinol .	54,5	0,057	∞/8
Alcool isobutylique.....	56,5	0,045	6/1
Alcool butylique.....		0,038	∞/12
Acétate d'éthyle	62,8	0,030	∞/15,2
Diethylcetone.....	58,2	0,029	∞/20
Paraldelyde	63,9	0,025	3/1
Alcool isoamylique.....	37,1	0,023	∞/2

Vernon (1913) détermina sur des têtards, l'activité narcotique de substances homologues et trouva que la sensibilité des animaux se modifie au cours de l'évolution ontogénétique, d'une façon irrégulière, de telle sorte que la loi de l'iso-capillarité ne se trouverait plus vérifiée.

Sensibilité des têtards suivant le stade de développement

G. Viale a repris en 1932 cette question de la sensibilité des têtards aux narcotiques suivant leur degré de développement. Il a, à cet effet, soumis des têtards d'âge différent à la même solution de narcotique (alcool, hydrate de chloral). Il a constaté que des têtards, longs de 10 mm. immergés dans une solution de 2,5% d'alcool, tombent en narcose beaucoup plus tôt que des têtards plus âgés longs de 20 à 30 mm. C'est ainsi que ces derniers se maintiennent parfois indéfiniment en mouvements, tandis que les jeunes animaux dorment déjà depuis 15 ou 20 minutes. Certes, on pourrait invoquer l'action d'un autre facteur : la valeur du rapport de la surface avec la masse, susceptible de rendre les animaux petits plus réceptifs

à l'agent narcotique que les gros. Mais, d'après l'auteur, cet argument, d'ordre uniquement quantitatif, ne peut pas jouer dans le cas fréquent où les animaux plus gros conservent indéfiniment leur vivacité en présence des narcotiques.

On voit donc que, d'après Viale, la plus grande perméabilité de la périphérie cellulaire des animaux jeunes par rapport aux animaux plus âgés ne fait pas de doute.

Meyer et Hemmi (1935), ont proposé de leur côté, la définition suivante : la narcose se produit quand une substance quelconque est introduite en concentration moléculaire déterminée dans certains lipides cellulaires et, plus exactement, dans les alcools lipidiques de la substance cellulaire. Pour les têtards la concentration à atteindre est de 0,03 mol.

Sensibilité des têtards aux solutions éthérées

Dans le courant de l'année 1919, A. Weber, a publié une série de notes où il décrit de façon très précise le déterminisme du sommeil anesthésique à l'éther chez les larves de Batraciens.

Influence de la durée du séjour dans l'anesthésique. — Les têtards de Grenouille *Rana temporaria* soumis à l'action d'une eau éthérée à 1% étaient sortis du liquide anesthésique immédiatement, puis 1, 3, 10, 15, 20, 25 et 30 minutes après l'apparition du sommeil. Dans ces conditions, l'intervalle de temps nécessaire pour la réapparition des mouvements provoqués augmente régulièrement jusqu'à l'avant-dernière expérience qui correspond à un séjour de 25 minutes dans le liquide hypnotique. Après un séjour plus considérable (30 minutes), le réveil devient plus rapide.

Influence du poids de la larve. — Pour arriver à des résultats comparables, l'auteur place chaque têtard endormi dans la même position gênante, couché sur le dos au fond d'un cristallisoir d'eau pure, en le calant avec un peu de sable ou avec un brin de mousse. Le premier mouvement « spontané » est un mouvement de natation par lequel l'animal cherche à se placer en position normale, le ventre en bas.

En opérant sur des têtards de *Rana temporaria* pesant 0, 14, 24, 43 et 110 centigrammes, on s'aperçoit que le premier sommeil apparaît d'autant plus vite que le têtard est plus petit mais cela seulement pour des larves au-desssous de 24 ctg., car au-dessus de ce poids, les têtards s'endorment au même

moment ; 2° le premier mouvement « spontané » suit de très près (environ 30 secondes à 15°) le premier mouvement reflexe. Le réveil se fait d'autant plus vite que le têtard est plus petit, mais à partir d'une certaine taille (au-dessus de 43 ctg.), les têtards se réveillent tous au même moment.

Influence de la répétition des expériences à une même température. — L'expérience était répétée soit en ne laissant que cinq minutes de repos après le premier mouvement spontané ; soit en reproduisant l'anesthésie toutes les 24 heures. Les résultats sont assez complexes et il est nécessaire de classer les animaux en têtards de petite taille ne dépassant pas le poids de 10 ctg., en têtards de moyenne taille de 10 à 50 ctg. et en têtards de grande taille au-dessus de 50 ctg. Dans toutes ces expériences, ce qui caractérise la réaction des animaux de grande taille ce sont des résultats très réguliers alors que les têtards de moyenne taille et surtout ceux de petite taille offrent des reponses très variables. L'auteur étudie d'abord sur un petit têtard, pour lequel les expériences successives ne sont séparées que par un intervalle régulier de cinq minutes, les courbes obtenues en portant les temps en abscisses et les moments d'apparition des phénomènes observés en ordonnées. *La courbe d'apparition du sommeil* descend régulièrement ; plus les expériences sont répétées, plus le têtard s'endort facilement, comme s'il y avait accumulation d'éther dans les centres nerveux. *La courbe du premier mouvement provoqué* après le séjour du têtard dans l'eau éthérée descend d'abord ; ce premier mouvement qui est sans doute un reflexe médullaire se produit au début d'autant plus rapidement que les expériences sont plus répétées ce qui semble en contradiction avec l'accumulation de l'anesthésique, tout au moins dans la moelle. Dans les expériences suivantes, la courbe du premier mouvement provoquée s'élève progressivement.

Supposant que la descente initiale de la courbe des premiers mouvements provoqués est due à l'élimination progressive de l'acide carbonique des tissus chez des animaux vivant dans une eau confinée et passant successivement dans des eaux renouvelées et bien aérées, l'auteur s'est servi de l'eau de l'aquarium pour les expériences, le résultat a été le même.

Le premier mouvement spontané apparaît au même moment dans les premières expériences, puis il retarde aussi et sa courbe monte parallèlement à celle du premier mouvement provoqué.

L'allure générale des courbes est indépendante de la température uniforme à laquelle sont faites les expériences ; pourtant aux températures élevées, spécialement à 30 degrés, les courbes des premiers mouvements provoqués et spontanés montent rapidement après un petit nombre d'expériences, tandis que la courbe d'apparition du sommeil baisse au plus vite. A un moment donné les courbes tendent vers l'infini, le têtard est mort.

Chez les têtards de taille moyenne ou de grande taille, les courbes en question se comportent de même dans l'ensemble, mais avec des sinuosités très marquées. L'abaissement initial de la courbe du premier mouvement provoqué paraît un fait constant qui se prolonge parfois très longtemps. Lorsque les expériences sont répétées toutes les 24 heures sur de petits têtards, les courbes ont un aspect un peu différent. La courbe d'apparition du sommeil monte légèrement, puis descend régulièrement. Les courbes des premiers mouvements provoqués et spontanés s'élèvent régulièrement puis s'abaissent un peu et l'animal meurt quelques jours après le début de ces expériences.

Chez les têtards de moyenne taille, les courbes des premiers mouvements provoqués et spontanés, ont même allure, mais avec de nombreux crochets. Lorsque l'animal meurt, c'est également à un moment où les courbes descendent, c'est-à-dire lorsque le réveil est plus rapide. La courbe d'apparition du sommeil s'élève d'abord, puis descend après avoir présenté quelques crochets.

D'autres larves de moyenne taille ont résisté plus d'un mois à la répétition quotidienne de ces expériences. L'animal paraît souffrir de ces nombreux sommeils artificiels. Il perd de son poids et n'atteint pas la métamorphose, du moins dans la période des expériences, tandis que toutes les larves écloses à la même époque et nourries de façon identique ont déjà perdu leur queue et sortent de l'eau.

Chez les gros têtards, les courbes sont caractérisées par des sinuosités qui correspondent à des périodes d'environ six à sept jours. Dans l'ensemble, les courbes montent puis descendent ; c'est pendant la descente que se produit la métamorphose. Dans la courbe du dernier mouvement provoqué, c'est-à-dire au début du sommeil, l'apparition de la métamorphose, spécialement l'atrophie de la queue, est annoncée par un petit crochet de la courbe. Il paraît impossible d'émettre la moindre hypothèse sur la cause du rythme sensiblement hebdomadaire

des mouvements de réveil et l'apparition de sommeil chez les gros têtards.

Ces expériences ont été reprises en créant des différences de température soit entre l'eau de l'aquarium d'une part, et l'eau éthérée où s'endort la larve et l'eau pure où elle se réveille, d'autre part, soit entre l'eau éthérée et l'eau pure. Les résultats obtenus permettent de conclure que ces différences de température influent relativement peu sur ce qui est reflexe, mais beaucoup plus ce qui a été précédemment défini comme volontaire.

Influence de la température. — Les expériences ont porté sur des têtards de *Bufo vulgaris*, de petite taille, pesant 8 centigrammes, ou de moyenne taille, d'un poids de 18 centigrammes à des températures différentes de 0°, 10°, 20° et 30°.

Les animaux sont placés auparavant au moins une heure dans de l'eau pure à la température prévue pour l'expérience.

Les têtards de petite et moyenne taille supportent parfaitement un séjour de plusieurs heures soit dans l'eau qui s'écoule de blocs de glace fondante, soit de l'étuve à 30°.

Les courbes, ainsi obtenues et qui représentent les moyennes de plusieurs expériences, montrent que les têtards de Crapaud sont très sensibles à l'influence de l'eau éthérée à 1% et qu'ils s'y endorment en quelques secondes.

Le maximum de rapidité dans l'apparition du sommeil se trouve à 0°, puis la courbe s'élève pour atteindre son sommet à 20° et redescendre un peu à 30°. C'est donc à 20° que le têtard plongée dans l'eau éthérée s'endort le moins rapidement.

Les têtards de 18 centigrammes s'endorment un peu plus vite que ceux de 8 centigrammes ; mais quel que soit le poids de la larve, c'est à 20° que le sommeil apparaît le plus tardivement.

Il serait intéressant de rechercher s'il s'agit là d'une modification particulière des centres nerveux ou d'un moyen de défense de l'organisme contre l'hypnotique.

Comme l'absorption de l'éther se fait en partie par la peau, il est possible qu'à cette température il y ait un optimum de défense des téguments vis-à-vis de l'anesthésique sans doute par l'intermédiaire de la sécrétion glandulaire de l'épiderme.

Les courbes se rapportant aux têtards de 8 centigrammes et de 18 centigrammes sont sensiblement parallèles aux températures de 0°, 10° et 20°. Les têtards de 18 centigrammes se

réveillent seulement un peu plus tard que ceux de 8 centigrammes.

Le premier mouvement provoqué, après les cinq minutes passées dans l'eau éthérée, est très tardif à 0°. Il est beaucoup plus précoce à 10°, 20° et 30°, sans qu'il y ait à ces différentes températures un écart important dans le temps d'apparition du premier mouvement provoqué. Ce mouvement est pourtant plus précoce à 20°.

De 10° à 30°, l'élimination de l'éther hors des cellules nerveuses médullaires (si le premier mouvement provoqué peut être considéré comme un reflexe de la moelle), se fait avec une rapidité presque identique avec un optimum de vitesse pour 20°.

Si l'on prend comme unité le temps d'apparition du premier mouvement provoqué à 20°, compté à partir du moment où le têtard a été plongé dans l'eau éthérée, on constate que les premiers mouvements provoqués apparaissent aux temps suivants :

Température	Têtards de 8 Ctg	Têtards de 18 Ctg
0°	3,200	3,336
10°	1,120	1,196
20°	1	1
30°	1,079	1,252

En comptant les temps à partir du moment où le têtard est sorti de l'eau éthérée, on aurait les proportions suivantes en se servant de la même unité.

Température	Têtards de 8 Ctg	Tètards de 18 Ctg
0°	6,471	6,508
10°	1,312	1,482
20°	1	1
30°	1,200	1,600

En comptant les temps, comme dans le premier tableau c'est-à-dire dès le début de l'expérience, on voit que la loi de Van t'Hoff Arrhenius est applicable à ces têtards entre 0° et 10°, mais ne peut être invoquée entre 10 et 30°. En effet, à 10°,

l'apparition du premier mouvement provoqué se fait environ trois fois plus vite qu'à 0°, ce qui n'est pas en contradiction avec la loi qui régit les vitesses de réaction aux différentes températures.

Entre 10° et 30°, l'élimination de l'éther hors des centres nerveux se fait avec une vitesse sensiblement égale sans doute sous l'influence de causes très diverses : circulation, respiration, excrétion urinaire, cutanée ou intestinale, etc...

Les courbes qui se rapportent au premier mouvement spontané sont un peu différentes suivant qu'il s'agit d'un têtard de 8 centigrammes ou de 18 centigrammes.

Chez les petites larves, la première manifestation de la volonté est d'autant plus rapide que la température est plus élevée, la courbe descend régulièrement. Chez les larves de taille moyenne, la courbe remonte de 20° à 30° ; il y a donc comme pour le premier mouvement provoqué un optimum à 20°.

Si l'on compte comme précédemment l'apparition du premier mouvement volontaire, à partir du moment où le têtard est immergé dans l'eau éthérée, on constate que la loi de Van t'HOFF ARRHENIUS est également applicable à des mouvements entre 0° et 10°.

Il est à remarquer que chez les têtards de Grenouille, la période d'excitation toujours assez prolongée de 10° à 30°, est très courte, presque absente à 0°. A cette température de la glace fondante, les têtards de Grenouille ou de Crapaud nagent pourtant avec une certaine activité, mais paraissent se fatiguer très rapidement et sont astreints à de longues périodes de repos.

De même, les premiers mouvements provoqués ou spontanés sont d'aspect très différent suivant qu'ils se produisent à 0° ou à une température au-dessus de 10°.

Dans l'eau glacée, ces premiers mouvements sont lents et souvent difficiles à observer ; au-dessus de 10°, les têtards en expérience ont le plus souvent un premier mouvement provoqué, brusque et très efficace qui les déplace subitement ; ce fait est surtout net chez les petits têtards.

Chez les larves plus volumineuses, le premier mouvement natatoire, soit provoqué, soit spontané, est toujours lent ; ce n'est que progressivement que les mouvements de natation s'accélèrent.

Influence de la narcose sur le développement des têtards

On doit à E. Gelma et M. Aron (1926), une série d'expériences destinées à rechercher quelle influence des substances, capables d'atteindre effectivement le système nerveux, exercent sur le développement embryonnaire des Anoures et à obtenir ainsi des indications sur les étapes du développement fonctionnel du nevraxe.

La malonylurée employée sous la forme de sommifène en solution dans l'eau (20 à 25 gouttes de somnifène pour 100 cm³ d'eau), n'affecte en rien les premiers stades évolutifs d'œufs fécondés de *Rana temporaria*, placés dans un tel milieu. La segmentation, la blastulation et la gastrulation s'y déroulent normalement. Mais lorsque les larves atteignent une longueur de 6 mm. à 6,5 mm., le développement s'arrête. Si l'on reporte à temps les larves dans l'eau ordinaire, elles sont susceptibles de poursuivre leur évolution. Sinon, elles meurent rapidement sans dépasser le stade précédent.

Le fait semble comporter l'interprétation que l'acquisition, par les éléments du système nerveux embryonnaire des Anoures, de leurs caractères physicochimiques définitifs, intervient à l'époque marquée par la narcose des têtards. C'est d'ailleurs au stade même où elle se produit que l'examen histologique du tube nerveux permet de discerner les premiers signes de différenciation des neurones. Les mouvements spontanés apparaissent sensiblement à la même période. Tout concorde donc à indiquer qu'à l'évolution physico-chimique des cellules nerveuses qui les rend sensibles à l'action du somnifène est liée leur évolution morphologique et fonctionnelle.

Les auteurs se sont demandés si la morphine en raison de l'affinité qu'on lui attribue, au moins chez les vertébrés supérieurs, pour le système nerveux, déterminerait chez les têtards Anoures des effets comparables à ceux de la malonylurée. Il n'en est pas ainsi. Dans des solutions faibles de morphine (0,5 ctg. pour 100 cm³), le développement demeure normal pour le plus grand nombre de larves expérimentées aussi bien durant les tous premiers stades de l'ontogénèse, qu'après l'apparition des mouvements. Dans des solutions plus concentrées (1 à 10 ctg. pour 100 cm³ d'eau), on assiste à la mort plus ou moins rapide des embryons très jeunes. Les têtards plus avancés dans leur évolution sont susceptibles de subir

le même sort mais leur résistance semble croître avec leur âge. On enregistre, d'ailleurs, des variations, pour une même concentration de morphine dans la durée de survie de larves de lots différents. Quoi qu'il en soit, ces résultats autorisent l'hypothèse que la morphine agit sur les embryons d'Anoures à la manière d'un toxique général sans aucune spécificité d'influence sur le tissu nerveux.

Les auteurs rappellent qu'Overton dans un but différent du leur, a lui-même étudié l'influence de la morphine sur les têtards sans l'envisager toutefois aux stades qui précèdent la différenciation des neurones. Il a constaté comme eux que la morphine pénètre lentement chez ces animaux qui résistent à son action même à de très fortes concentrations. Le même chercheur a administré, en revanche, à des larves de tout âge de la strychnine et il a noté des résultats qui se superposent dans une certaine mesure à ceux fournis par le somnifène. Inoffensive durant les premières étapes de l'ontogénèse, la strychnine ne déclanche son action qu'une fois atteinte une longueur de 9 mm. environ des embryons. Elle provoque alors une paralysie comparable, note Overton, à celle que déterminerait le curare. Il paraît intéressant aux auteurs de souligner que les manifestations d'influence élective de la strychnine se montrent nettement postérieures à celle de la malonylurée et ils sont amenés à voir dans la méthode pharmacologique un moyen d'obtenir de précieuses indications sur les étapes dans le développement fonctionnel, chez les Anoures, des divers éléments du système neuro-musculaire.

Narcose, motilité et développement

Le problème des relations qui relient l'activité musculaire générale à la croissance a déjà préoccupé les biologistes, et d'aucuns ont tenté de l'éclairer. Mais si l'on se propose d'immobiliser de jeunes Mammifères ou Oiseaux, on aboutit à des constatations forcément entachées d'incertitudes, car les efforts auxquels les animaux se livrent pour échapper à la contention ou les mauvaises conditions nutritives qui en sont inséparables constituent autant de causes d'erreur.

Si, en revanche, pour de tels essais, comme l'a fait remarquer Max Aron, on s'adresse à des larves de Batraciens, durant la période de croissance dite « autotrophique », c'est-à-dire alors que les animaux ne consomment que leurs réserves vitellines, on n'atteint en rien leurs ressources nutritives, qui demeurent

identiques à celles des témoins. On peut alors, pour obtenir l'immobilité des embryons, provoquer leur narcose. On a recouru pour cet effet, à divers agents. Le somnifène, en particulier, a permis quelques constatations nettes, de même ordre, que celles dont il va être fait état. Mais les larves ainsi endormies ne conservent guère plus de deux jours un état normal. Aron a mené des expériences de plus longue durée, grâce à l'emploi du dial. Des têtards de *Rana esculenta*, soumis à l'influence de cet hypnotique, ont pu poursuivre plus d'une semaine leur développement. Les têtards de *Rana temporaria* ont été suivis en moyenne de trois à quatre jours. Ces délais suffisent à autoriser des comparaisons fructueuses entre la croissance des lots soumis à la narcose et celle des lots témoins. Ces comparaisons ont porté, d'une part sur les dimensions linéaires des embryons, d'autre part sur leur poids. Pour réunir en lots les animaux en expérience et les témoins, on a comme cela va de soi, choisi, parmi les embryons d'une même ponte, des sujets aussi identiques que possible.

La croissance des têtards immobilisés, exprimée par leur longueur aux divers stades, se poursuit exactement à la même vitesse que chez les témoins, comme en font foi les résultats suivants (les chiffres indiqués correspondent à la moyenne des dimensions des têtards d'un même lot). *a*) Lot de 12 larves de *Rana esculenta* de 9 mm. endormies au dial le 26 mai. Longueur des larves endormies et des témoins le 2 juin 12 mm. ; *b*) lot de 10 larves de *Rana temporaria* de 12,3 mm., endormies au dial le 15 avril. Longueur des larves endormies le 17 avril : 13,2 ; longueur des témoins 13, 1. c) ; lot de 12 larves de *Rana temporaria* de 11,1 mm. ; endormies au dial le 15 avril. Longueur des larves endormies et des témoins le 17 avril : 12,7 mm. ; *d*) lot de 8 larves de *Rana temporaria* de 9,7 mm. endormis au dial le 13 avril. Longueur des larves endormies et des témoins le 17 avril : 13 mm.

Plusieurs autres observations apportent des renseignements analogues. On voit, en somme, que la croissance de larves de Grenouille réduites à l'immobilité reste absolument normale. Il est important de noter que la plupart des observations ont concerné des têtards à la période ultime de leur croissance autotrophique, au temps où les sujets normaux nagent déjà avec activité et d'une manière presque ininterrompue.

Ces résultats ont été corroborés par des pesées précises de lots d'embryons soumis à la narcose et de lots témoins. Une telle

méthode enseigne que, tant que la motilité des témoins est faible, et ne consiste qu'en brèves crises d'agitation, comme c'est le cas jusqu'à deux ou trois jours de la fin du développement autotrophique, le poids des sujets normaux croit sensiblement dans la même proportion que celui des sujets en narcose. C'est ainsi que, dans une expérience, le poids de 8 larves de *Rana temporaria* normales de 0,7 mm. à l'origine, est passé en deux jours de 60 à 91 mg., tandis que celui de 8 larves de même taille endormies, passait de 62 à 91 mg., dans une autre le poids de 20 larves normales de 10 mm. est passé en deux jours de 162,5 mg. à 228,5 mg., cependant que celui de 20 larves de même taille endormies, passait de 166 à 227 mg. Au cours de la phase terminale de la croissance autotrophique, le poids des sujets immobilisés semble, à égalité de dimensions, devenir supérieur à celui des témoins. Pour les premiers, on a relevé, en deux jours, des accroissements de poids de 37 mg. (pour 9 larves), 82 mg. (pour 12 larves), 49 mg. (pour 10 larves), contre respectivement 25,5-74,5-37,5 mg. pour les seconds. Les différences ainsi enregistrées en faveur des sujets en narcose dépassent nettement celles qu'on pourrait imputer à des erreurs d'expérience, et, même, si l'on n'accorde pas aux chiffres une valeur trop absolue, on peut voir en eux l'indication, d'ailleurs logique, que les larves immobiles économisent leurs réserves par rapport aux témoins qui les utilisent en partie pour leur activité musculaire, toutes choses égales au point de vue de l'édification de substance vivante.

Sur la base de tels résultats, l'auteur pense avoir le droit de tenir pour un fait que, durant la période de développement autotrophique, le mouvement n'exerce aucune influence sur la croissance des Amphibiens et d'émettre, en outre, l'hypothèse que la croissance ne saurait être accélérée par un excédent de réserves mis à la disposition des cellules. Pour des conditions externes déterminées, le rythme de la croissance ne dépend que des facteurs internes liés à la constitution même de l'organisme.

CHAPITRE XIV

SAPONINES

Expériences d'Overton, Expériences personnelles : influence de la saponine, Expériences personnelles : Action des sels, Expériences personnelles : action des sucres, Expériences personnelles : action du cholestérol.

Expériences d'Overton

L'action des Saponines sur les têtards a été étudiée de façon approfondie par Overton (1913-1918). Les solutions de saponine lèsent rapidement les épitheliums de la peau et des branchies en les détachant avant qu'une quantité appréciable de substance pénètre dans l'organisme et avant que les autres organes soient atteints.

Ces lésions épithéliales permettent la diffusion suivant les lois physiques de l'osmose entre les cristalloïdes dissous du plasma et ceux de la solution environnante.

Dans les solutions de saponine qui ne renferment que peu de sel ou qui n'en renferment pas du tout, les têtards vont donc mourir pour l'unique raison que les cristalloïdes du plasma passant dans la solution de saponine, ce départ entraîne une hypotonie mortelle du milieu intérieur.

Ce fait que la mort des animaux dans de telles expériences soit causée uniquement par la perte des sels et non par des effets susceptibles d'être rapportés à une résorption de la saponine, ne pouvait être prouvé par Overton que par l'emploi de solution de saponine salifiée. Au lieu de dissoudre les saponines dans de l'eau pure, il les dissolvait dans une solution renfer-

mant du chlorure de sodium, du chlorure de potassium et du chlorure de calcium, à peu près dans les mêmes proportions où ceux-ci existent dans le plasma des têtards : ClNa 0,65 pour 100 + ClK 0,02 pour 100 + Cl^2 Ca, 6 $H^2$0, 0,06 pour 100.

Dans de telles solutions, les épitheliums de la peau et des branchies étaient vite endommagés et détachés comme dans des solutions de saponine pure ; néanmoins, les animaux continuaient à vivre, même lorsque la teneur en saponine devenait beaucoup plus forte et que l'on prolongeait son temps d'action.

Les symptômes de l'intoxication par les saponines sont d'après Overton, les suivants : même dans des solutions à concentrations très faibles, la digitonine, par exemple à 1 pour 200.000, se montre déjà, dès les premières minutes un syndrome irritatif caractérisé par des mouvements anormaux du corps, tels que contorsions en forme d'anneaux. Les mouvements des cils cessent bientôt. La superficie des cellules de l'épiderme se soulève et bientôt quelques cellules épithéliales commencent à se détacher ; puis, des parties plus importantes. Les sels plasmatiques passent dans la solution et les animaux meurent.

Les phénomènes d'intoxication proprement dits ne peuvent être observés que lorsque les saponines sont dissoutes dans des solutions salines adéquates. Les mouvements des têtards qui étaient très faibles durant le détachement des lamelles épithéliales, commencent à se ranimer. La circulation caudale, d'ailleurs tout à fait normale, peut être examinée beaucoup plus facilement qu'à l'accoutumée par suite de la perte de l'épithelium. Au bout de quelques heures apparaît une diminution de volume corporel excessivement marquée aboutissant finalement à une diminution de poids de 50% et plus. Ce phénomène s'expliquerait d'après Overton, par le fait que les têtards, surtout à certains stades de leur développement, contiennent de grandes quantités de lymphe sous une certaine pression hydrostatique. Cette lymphe filtre, peu à peu, à l'extérieur à travers les téguments dénudés.

Dans le cas de solution concentrée ou après un temps prolongé, les tissus de la queue se corrodent plus ou moins fortement et dans sa partie épidermique, la circulation cesse dans toute une zone des capillaires. Plus tard, se montrent les effets dus à une résorption de la saponine ; le cœur et le système nerveux central sont influencés et finalement la nervure transversale des muscles dans les métameres de la queue disparaît complètement.

Si l'on transporte les têtards qui ont perdu leur épithélium

cutané et branchial dans une solution de saponine faite dans le liquide de Ringer et en ajoutant à ce liquide du ClK jusqu'à une teneur totale de 0,06 %, on voit le ClK du plasma augmenter rapidement dans les mêmes proportions. Par l'emploi de cette méthode, on peut apprécier exactement quelle teneur doit atteindre le ClK dans le plasma pour arrêter le cœur et de même pour les toxiques, de résorption difficile ; car les têtards intacts et « cyclaminisés », montrent une différence énorme, par rapport aux témoins, en ce qui concerne la perméabilité de la peau et des branchies vis-à-vis des substances insolubles dans les lipoïdes.

Pour étudier ces effets toxiques, Overton préparaît les têtards de la façon suivante : une cinquantaine de larves de *Rana Fusca* étaient placées dans un liquide de Ringer renfermant 0,55% de ClNa, 0,02% de ClK et 0,03% de Cl^2Ca. Après quelques minutes d'immersion, les têtards sont transportés dans 10 cm^3 de liquide de Ringer, renfermant 1 pour 10.000 de cyclamine. Dix minutes plus tard les têtards sont plongés pendant deux minutes et cela deux ou trois fois dans 25 cm^3 d'une solution de Ringer pure. Les animaux sont alors transportés dans des récipients de verre plats contenant 100 à 150 cm^3 de liquide de Ringer dans lequel on les laisse jusqu'au moment de leur mise en expérience. Il importe de ne pas prolonger trop longtemps le traitement à la cyclamine. Il existe un intervalle optimum à respecter. L'épithélium de la peau et des branchies des têtards fixe une quantité considérable de saponine, de sorte qu'en employant de petites quantités de solution de cyclamine et de nombreux têtards on voit la teneur de la solution en cyclamine, diminuer, peu à peu, de façon considèrable. Overton suppose que c'est le cholestérol renfermé dans les cellules épitheliales qui retient la cyclamine.

Pour S. Ledebt (1914), la toxicité de la cyclamine vis-à-vis des têtards, est presque égale à celle de la lysocithine, celle de la saponine est huit fois plus faible.

Comme pour la lysocithine, le cholesterol garde son pouvoir antagoniste, mais contrairement à ce qui se passe pour la lysocithine, la toxicité des saponines dépend beaucoup de la concentration du milieu ; elle est fortement augmentée par la présence de chlorure de sodium et surtout par les chlorures de magnésium et de calcium.

Sieburg et Backmann (1921) ont comparé l'effet toxique de plusieurs saponines sur des têtards de *Rana temporaria* âgés de

trois ou quatre semaines. Ces têtards étaient répartis par groupe de cinq dans 100 cm³ d'une solution de saponine dans l'eau distillée et on cherchait quelle était la concentration la plus faible capable de produire la mort de tous les animaux en trois heures. Les auteurs ont obtenu pour la cyclamine, 1/450.000 ; 1/400.000 pour la digitonine ; 1/100.000 pour la quillajasaponine ; 1/100.000 pour la saponine Merck et 1/400 pour la saponine de gaïac.

Expériences personnelles : influence de la saponine

Toutes nos expériences ont été faites sur des têtards bien développés, mais non métamorphosés ; à la température du laboratoire 16-18° ; et avec de l'eau de ville pure pour les témoins, une solution de sels ou de saponine pour les autres. Nous n'avons jamais employé un volume d'eau inférieur à 50 cm³ par têtard.

Nos recherches ont porté sur trois saponines dont on pourra trouver ailleurs l'étude pharmacodynamique (1) : la saponine *purum album* Merck, la saponine de Dumoria Heckeli et la Saponine de gaïac.

Nos résultats peuvent se résumer de la manière suivante :

Avec la saponine Merck à 1 pour 1.000, mort en moyenne en 41 minutes ; à 1 pour 3.000 mort en 165 minutes ; à 1 pour 5.000 mort en 12 heures et à 1 pour 10.000 survie après 25 heures.

Avec la saponine de Dumoria à 1 pour 10.000, mort en 155 minutes.

Avec la saponine de gaïac à 1 pour 100, mort en 115 minutes ; et à 1 pour 1.000, mort en 125 minutes.

Expériences personnelles : action des sels

Nous avons cherché à reproduire l'expérience d'Overton en faisant agir dans des conditions strictement comparables la même saponine (saponine Merck) en solution dans l'eau de ville ou dans la solution d'Overton (ClNa 0,65 ; ClK 0,02 ; Cl^2Ca, $6H^2O$ 0,06 ; eau de ville pour 100).

Nos résultats peuvent se résumer de la sorte :

Saponine à 1 pour 1.000 dans l'eau de ville, mort en 45 minutes.

Saponine à 1 pour 1.000 dans la solution d'Overton, mort en 290 minutes.

(1) P. Dodel, G. Dastugue et A.-M. Villedieu. *Bull. Sc. Pharmacol.* 1939, 46, p. 401.

Saponine à 1 pour 3.000 dans l'eau de ville, mort en 185 minutes.

Saponine à 1 pour 3.000 dans la solution d'Overton, mort en 310 minutes.

On voit donc qu'avec la solution d'Overton, nous avons obtenu une protection très efficace, qui s'est montrée même plus accusée pour les concentrations les plus fortes en saponine.

Nous avons alors voulu examiner le problème de plus près et examiner de façon détaillée quelle pouvait être l'influence propre à chacun des ions. Nous avons étudié de la sorte le sodium, le potassium, l'ammonium, le calcium et le magnésium utilisés sous forme de chlorure. Des expériences préalables rapportées précédemment nous avaient montré dans quelle mesure ces différents chlorures employés seuls aux mêmes doses qu'en présence de saponine pouvaient avoir par eux-mêmes dans nos conditions expérimentales et dans les intervalles de temps observés, une action toxique sur les têtards. Nous résumons nos différents résultats dans les tableaux ci-joints où sont simplement indiqués les temps de survie en minutes.

Tableau I — Sodium

Saponine à 1 pour 3.000 dans l'eau de ville								ClNa M/7,5 seul
Saponine seule	ClNa M/200	ClNa M/100	ClNa M/75	ClNa M/50	ClNa M/25	ClNa M/10	ClNa M/7,5	
185	180	165	155	190	197	231	205	>1440

Tableau II — Potassium

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville				ClK M/10 seul
Saponine seule	ClK M/100	ClK M/50	ClK M/10	
185	170	105	23	385

Tableau III — Ammonium

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville					$ClNH_4$ M/10 seul
Saponine seule	$ClNH_4$ M/100	$ClNH_4$ M/50	$ClNH_4$ M/25	$ClNH_4$ M/10	
185	117	68	42	23	223

Tableau IV — Calcium

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville				Cl^2Ca M/10 seul
Saponine seule	Cl^2Ca M/100	Cl^2Ca M/50	Cl^2Ca M/10	
185	82	65	55	>2160

Tableau V — Magnésium

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville				Cl^2Mg M/10 seul
Saponine seule	Cl^2Mg M/100	Cl^2Mg M/50	Cl^2Mg M/10	
185	95	48	33	>1020

Il ressort donc très clairement de nos expériences que les ions examinés se répartissent en deux catégories suivant leur action sur l'intoxication saponinique chez les têtards.

Dans un premier groupe (qui n'est d'ailleurs représenté que par le sodium), on peut dire que probablement, plus il y a de sel et plus l'action protectrice est forte. Cependant, un examen attentif montre que la courbe exprimant ce phénomène n'est pas rectiligne. Nous avons multiplié les expériences pour nous mettre à l'abri des variations de résistance individuelle et nous

pouvons affirmer que les petites doses de ClNa (M/100, M/75), sont défavorables ; puis l'action protectrice s'affirme à partir de M/50, M/25 ; passe par un maximum à M/10 ; diminue mais reste positive à M/7,5.

Dans un second groupe où entrent potassium, ammonium, calcium et magnésium, l'action du sel est toujours défavorable, et toujours d'autant plus défavorable que la concentration est plus forte. Cette allure univoque du phénomène nous paraît d'autant plus intéressante qu'elle représente le rôle aussi bien de métaux alcalins (K, NH^4) que des métaux alcalins terreux (Ca, Mg) aussi bien d'éléments relativement toxiques pour les têtards (K, Am) que d'éléments dépourvus dans les mêmes conditions, de toute nocivité apparente (Ca, Mg).

Expériences personnelles : action des sucres

Toujours dans les mêmes conditions, nous avons recherché l'action protectrice susceptible d'être présentée par quelques glucides simples : glucose, galactose et levulose d'une part ; saccharose, maltose et lactose d'autre part. Il s'agissait, toutefois, de têtards un peu plus âgés et plus sensibles à l'action de la saponine.

Tableau VI — Glucose

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville				Glucose M/10 seul
Saponine seule	Glucose M/100	Glucose M/50	Glucose M/10	
205	150	205	320	> 1200

Tableau VII — Levulose

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville				Levulose M/10 seul
Saponine seule	Levulose M/100	Levulose M/50	Levulose M/10	
205	157	154	285	> 1200

Tableau VIII — Galactose

Saponine à 1 p. 300 dans l'eau de ville				Galactose M/10 seul
Saponine seule	Galactose M/100	Galactose M/50	Galactose M/10	
205	152	143	222	>360

Tableau IX — Saccharose

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville				Saccharose M/10 seul
Saponine seule	Saccharose M/100	Saccharose M/50	Saccharose M/10	
205	177	200	293	>600

Tableau X — Maltose

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville				Maltose M/10 seul
Saponine seule	Maltose M/100	Maltose M/50	Maltose M/10	
205	188	200	263	>600

Tableau XI — Lactose

Saponine à 1 p. 3000 dans l'eau de ville				Lactose M/10 seul
Saponine seule	Lactose M/100	Lactose M/50	Lactose M/10	
205	192	213	310	>600

Il ressort de ces résultats que l'allure du phénomène est la même pour tous les sucres essayés. Comme pour le sodium,

mais de façon plus accusée encore, nous constatons une action défavorisante à petite dose (M/100 et parfois même M/50), mais très protectrice à dose élevée (M/10) avec quelques variantes dans l'intensité d'un sucre à l'autre.

Nous nous contentons en terminant, de souligner une fois encore l'action défavorable des petites doses, action défavorable que nous avons retrouvée pour toutes les substances protectrices et sur laquelle Overton ne nous semble pas avoir attiré l'attention.

Expériences personnelles : action du cholestérol

Conformément à l'hypothèse formulée par pluiseurs auteurs relativement à l'action antitoxique exercée par le cholestérol vis-à-vis des saponines, nous avons cherché à mettre en évidence cette influence en présence des larves de Batraciens.

Il s'agissait, comme précédemment, de têtards de Grenouille répartis soit dans l'eau de ville pure, soit dans des solutions de saponine dans l'eau de ville seule ou dans une émulsion aqueuse de cholestérol. Les émulsions aqueuses de cholestérol étaient préparées suivant la technique de S. Ledebt, à partir d'une solution acétonique de cholestérol que l'on projetait goutte à goutte dans de l'eau à ébullition. L'acétone s'évapore au fur et à mesure de son adjonction et l'on obtient une émulsion relativement stable de cholestérol dont il est facile de déterminer le titre exact par pesée après dessication d'une partie aliquote.

Les moyennes de nos résultats s'établissent de la façon suivante :

Cholestérol seul à 1 p. 10.000 survie $>$ 480 minutes.

Saponine seule à 1 p. 3.000, 192 minutes.

Saponine + Cholestérol à 0,02 p. 10.000, 190 minutes.

Saponine + Cholestérol à 0,05 p. 10.000, 195 minutes.

Saponine + Cholestérol à 0,10 p. 10.000, 195 minutes.

Saponine + Cholestérol à 0,20 p. 10.000, 185 minutes.

Saponine + Cholestérol à 0,50 p. 10.000, 185 minutes.

Saponine + Cholestérol à 1 p. 10.000, 168 minutes.

Nous concluons donc, *dans les limites de nos conditions expérimentales*, à l'absence de propriété antitoxique du cholestérol vis-à-vis de la saponine sur les larves de Batraciens.

CHAPITRE XV

AUTRES SUBSTANCES ORGANIQUES

Toxicité et mode d'action
Influence du pH et des sels minéraux

Toxicité et mode d'action

D'après Abderhalden et Hartmann, les acides gras pourraient accélérer la métamorphose des larves de Grenouille.

Marshall (1931) compare la toxicité de la 4-6 diiodo-hydroxyphenylalanine (1 p. 10.000) et celle de la 5 bromo-hydroxyphenylanine (1 p. 5.000) à celle de la thyroxine qui à 1 pour 1.000 produit la mort de 90 p. 100 des têtards en vingt-quatre heures.

L'acide phénique à 0,5 ou 0,25. 10^{-4} favoriserait la métamorphose des têtards de *Rana temporaria* (Gurber et Gessner, 1928).

Les dérivés phénoliques provoquent des convulsions, qui peuvent d'ailleurs disparaître sans amener la mort des animaux, ce serait notamment le cas du tricresol à la concentration de 0,004 pour 1.000 (Kroszczynski, 1924).

Le dinitrophenol qui augmente le métabolisme comme la thyroxine n'a par contre aucune action accélératrice sur la métamorphose des têtards (Cutting et Tainter, 1933).

Kroszczynsky et Modrakowski (1925), ont constaté que la concentration non toxique maximale dans laquelle les têtards peuvent vivre en ne présentant aucune réaction anormale est de 0,004 p. 100 de bi-hydrochlorate de quinine pour les têtards de *Rana temporaria*, et de 0,005 jusqu'à 0,0053 p. 100 pour les

têtards de *Pelobates fuscus*. Laissés pendant quelques semaines sous l'action même ininterrompue de ces solutions, les têtards n'accusent qu'une légère diminution en longueur et en largeur. Si la concentration de la quinine est plus élevée, la vivacité de leurs mouvements s'atténue bientôt, leur équilibre est troublé, puis surviennent le coma et la mort.

La choline à 18. 10^{-5} produirait un retard de croissance et une action nulle sur la métamorphose (Farkas et Tangl, 1925) ; l'ovolecithine, action indécise sur la croissance, nulle sur la métamorphose (Morse, 1914) ; le cholestérol à la dose de 0,10 g. tous les trois jours, action indécise sur la croissance, favorable sur la métamorphose (Abderhalden et Hartmann), ergosterol à la dose de 0,10 g. tous les trois jours, action indécise sur la croissance, favorable sur la métamorphose (Abderhalden et Hartmann).

La colchicine jusqu'à des concentrations de 0,005 et 0,006 g. par 500 cm^3 d'eau permet aux têtards de vivre pendant des temps assez longs (plusieurs semaines par exemple). Mais à partir de 0,010 et de 0,020 g. la survie n'est plus que de quelques jours. Cependant, il est encore possible d'expérimenter à ces doses, soit en ne laissant agir la substance que cinq ou six jours de suite, et en immergeant ensuite les larves dans l'eau pure, soit en n'utilisant la colchicine que quelques heures par jour ou un jour sur deux. (Dodel et Dastugue, 1939). Ces doses, même dans les conditions où elles permettent une large survie, déterminent néanmoins une diminution considérable de la croissance pondérale. L'action sur la métamorphose est moins nette.

Les mêmes auteurs décrivent encore l'expérience suivante : Têtards provenant de la même ponte (9 avril 1939). La queue est sectionnée avec une fine lame tranchante perpendiculairement à l'axe et à 5 mm. de l'extrémité, le 4 mai. Un lot sert de témoin. Un autre lot est immergé dans une solution de colchicine à 1 p. 25.000 pendant huit jours, puis dans une solution à 1 p. 100.000 ensuite. Le 12 mai, la partie sectionnée s'est régénérée chez les témoins, alors que chez les animaux en expérience, il y a absence de régénération. Cette différence reste bien marquée pendant quelques jours, puis va en s'atténuant. La colchicine est donc capable dans certaines conditions d'exercer une action intéressante sur le développement des larves d'Amphibiens.

Influence du pH et des sels minéraux

La toxicité des alcaloïdes tels que atropine, nicotine, etc..., vis-à-vis des têtards de Grenouille augmente quand le pH de la solution s'élève. Avec les sels d'acides, tels que butyrate, salicylate, benzoate de sodium, la toxicité augmente lorsque le pH s'abaisse (Labes, 1932).

Puech et Roche (1937) ont montré que des têtards plongés dans des solutions de novarsenobenzol survivent en moyenne 53 heures pour des dilutions de 1/6000, 78 heures pour 1/7000, 146 heures pour 1/8000. Si les solutions de novarsenobenzol sont faites non plus avec de l'eau pure, mais avec des eaux minérales plus ou moins diluées (au 1/5, au 1/4, au 1/3), on obtient soit une diminution du temps de survie (pouvoir anagotoxique de Billard) : Le Mont-Dore Chanteurs, Saint-Nectaire-Saint-Cezaire, Vichy-Hôpital, Châtel-Guyon-Deval ; soit une augmentation de ce temps (pouvoir agotoxique de Billard) : La Bourboule Fenestre.

Mais de plus, il est possible, suivant la technique de Billard, de plonger les têtards pendant quelques jours dans les mêmes eaux minérales convenablement diluées, avant de les immerger dans la solution de novarsenobenzol.

On note alors (Puech et Roche, 1938) une action protectrice (pouvoir phylactique de Billard), pour Vichy-Hôpital, Vichy-Chomel, Vichy-Grande-Grille, La Bourboule-Choussy, Châtel-Guyon-Deval. Ainsi la même eau minérale peut être à la fois anagotoxique et phylactique.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au cours de cet exposé, nous avons décrit les larves de Batraciens comme des animaux de laboratoire susceptibles de réagir de façon plus ou moins intense, plus ou moins caractéristique, aux agents médicamentaux les plus variés, soit physiques, soit physicochimiques, substances chimiquement définies ou extraits organiques encore indéterminés et nous avons vu s'élaborer, peu à peu, ce que l'on pourrait appeler l'histoire pharmacodynamique ou pharmacologique de ces larves.

Mais ce que nous avons examiné de plus près, c'est moins encore les réactions de l'animal envisagées pour elles-mêmes, que considérées comme traduisant l'action physiologique des diverses substances « essayées ».

Nous n'avons pas la prétention de conclure de cette étude que les larves de Batraciens représentent un réactif biologique irremplaçable auquel devraient nécessairement faire appel pharmacodynamistes, physiologistes, toxicologues. Mais nous sommes persuadés, ainsi que nous y avons déjà fait allusion, que la possibilité de s'en procurer de façon abondante, — pendant une période malheureusement limitée de l'année, il est vrai — et de les grouper par lots de même origine et de même taille, leur manipulation commode, leurs croissances pondérale et morphogène rapides et d'observation aisée, la facilité avec laquelle elles sont susceptibles d'absorber un grand nombre de substances biologiques ou médicamenteuses, soit *per os*, soit par les branchies ou les téguments, les classent parmi les animaux d'expérience les plus utiles. Aussi le but que nous nous proposons en rédigeant ce mémoire sera amplement rempli si les laboratoires qui utilisent ces humbles collaborateurs — et nous avons vu s'ils étaient nombreux — se trouvent aidés dans leur tâche par ce petit livre.

CONCLUSIONS PERSONNELLES

Pour ce qui est de nos propres recherches, nous pouvons les résumer de la façon suivante :

1° Si l'on pèse des têtards de Grenouille à intervalles réguliers après les avoir immergés dans des solutions salines plus ou moins concentrées de chlorure de sodium, bicarbonate de sodium, chlorure de calcium, on s'aperçoit que les têtards diminuent de poids. Cette diminution est, en général, d'autant plus accentuée que la solution est plus concentrée et la durée de l'expérience plus considérable (p. 17).

2° En réalisant à l'aide de solutions de phosphates mono et bisodiques M/3 des milieux tampons de pH variés que l'on dilue au 1/4 pour l'emploi, on constate l'existence d'une zone optimale comprise sensiblement entre pH 7,1 et pH 7,7 et en deçà et au-delà de laquelle la survie des têtards est assez limité (p. 27).

3° Des solutions M/10 de chlorures de sodium, de calcium et de magnésium dans l'eau de ville, à la température de 16°, ne produisent aucun phénomène pathologique apparent chez les têtards pour des périodes d'observation de 4 à 24 heures. Dans les mêmes conditions, la survie a été en moyenne de 223 minutes dans le chlorure d'ammonium et de 385 minutes dans le chlorure de potassium (p. 31).

4° En solution dans l'eau de ville et à la température de 16-18°, la saponine Merck à 1 pour 1.000 produit la mort des têtards en 41 minutes ; à 1 pour 3.500, mort en 165 minutes ; à 1 pour 5.000, mort en 12 heures et à 1 pour 10.000, survie après 25 heures.

Avec la saponine de Dumoria Heckeli à 1 pour 10.000, mort en 155 minutes.

Avec la saponine de gaïac à 1 pour 500, mort en 115 minutes et à 1 pour 1.000, mort en 125 minutes (p. 129).

5° Toutes conditions restant égales par ailleurs, les cristalloïdes ont une influence profonde sur la toxicité de la saponine. D'une part, nous avons pu reproduire l'expérience d'Overton (p. 129), d'autre part, nous avons mis en évidence l'action d'un certain nombre de chlorures.

Dans le cas du chlorure du sodium, les petites doses (M/100, M/75), sont défavorables, puis l'action protectrice s'affirme à partir de M/50, M/25 ; passe par un maximum à M/10 ; diminue mais reste positive à M/7,5.

Dans le cas des chlorures de potassium, ammonium, calcium et magnésium, l'action du sel est toujours défavorable et d'autant plus que la concentration est plus forte (p. 130).

6° En ce qui concerne les sucres (glucose, levulose, galactose, saccharose, maltose, lactose), leur action sur la toxicité de la saponine est sensiblement la même pour chacun d'eux : action défavorable à petites doses (M/100 et parfois même M/50), mais très protectrice à dose élevée (M/10) avec quelques variantes d'intensité d'un sucre à l'autre (p. 132).

L'ensemble de ces derniers groupes d'expériences apporte une confirmation à l'hypothèse d'Overton suivant laquelle la saponine en modifiant la perméabilité des épithéliums du têtard, produit la mort par perte des sels minéraux qui passent du milieu intérieur dans l'eau de l'aquarium.

Elles y ajoutent quelques précisions relatives à l'action des différents sels considérés isolément et des sucres. Elles soulignent une fois de plus l'intérêt qui s'attache à l'étude des têtards considérés comme réactifs pharmacodynamiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abderhalden (E.) und Schiffmann (O.). — Weitere Untersuchungen über die von einzelnen Organen hervorge brachten Substauzen mit spezifischer Wirkung. *Pfluger's Archiv.*, 1922, 194, p. 206.
2. Abderhalden (E.) und Schiffmann (O.). — Studien über die von einzelnen Organen hervorgebrachten Substauzen mit spezifischer Wirkung. *Pfluger's Archiv.*, 1922, 195, p. 167 et 1923, 198, p. 128.
3. Abderhalden (E.). — Fortgesetzt Studien uber die von einzelnen Organen hervorgebrachten Substanzen mit spezifischer Wirkung. II Mitt. *Pfluger's Arch.*, 1923, 201, p. 432.
4. Abderhalden (E.) und Hartmann (J.). — Vergleichende Untersuchung der Wirkung von ans Schilddrüsen gervonnemem thyroxin und von synthetisch bereiretem. *Pfluger's Arch.*, 1927, 217, p. 531.
5. Abderhalden (E.) und Hartmann (J.). Weitere Versuche über den Einfluss verschie dener jodhaltiger produkte auf Wachstum und Metamorphose von Kaulquappen. *Pfluger's Arch.*, 1928, 218, p. 261.
6. Abderhalden (E.) und Wertheimer (E.). Weitere Beitrag zur Kenntnis der Wirkung des Thyroxins. Studien über thyroxin bildung ans thyronin (Desjodothyroxin) und Jod imtiérischen Organismus. *Ztschr. für Ges.* Exp. Med. 1929, 68, p. 563.
7. Abelin (J.). — Einfluss von Dijodtyramin und Tyramin auf die Entwicklung von Froschlarven. *Bioch. Ztschr.*, 1920, 102, p. 58.
8. Abelin (J.). — Ueber den Einfluss spezifish gobanter Jodverbidungen auf die Metamorphose von Froschlarven und von Axolotl. *Bioch. Ztschr.*, 1921, 116, p. 138.
9. Abelin (I.) und Scheinfinkel (N.). — Gaswechsel und Metamorphose von Amphibien larven nach Verfutterung von Schilddruse oder von Johaltigen Substanzen. *Pfluger's Archiv.* 1923, 198, p. 151.
10. Abelin (I.) und Scheinfinkel (N.). — Ueber das verhalten der Schilddrunsenstoffe und des Dijodthyrosins in organismus. *Ergele. Physiol.*, 1925, 24, p. 690.
11. Adams (A.-E.). — Ovulation provoquée chez la grenouille et les têtards. *Proc. Soc.* Exp. Biol. and Med., 1931, 28, p. 677.
12. Addair and Childester. — Pinéal and métamorphosis. *Endocrinology*, 1928, 12, p. 791.
13. Adler (L.). — Influence de l'extirpation du thymus et de l'epiphyse sur la métamorphose des larves d'Amphibiens. *Ann. Biol.*, 1914, p. 270.

14. Addler (L.). — Metamorphosestudien am Batrachierlaven. Extirpation der Epiphyse. *Arch. für Entwicklungsmech*, 1914, 39, p. 40.

15. Adler (L.). — Metamorphosestudien an Batrachierlarven. I. Extirpation endokrnier Drusen. Extirpation der Hypophyse. *Arch. für Entwicklungsmech.*, 1914, 39, p. 21.

16. Adler (L.). — Untersuchengen uber die Entstehung der Amphibien neotoniê. Zugleich, ein Betrag Zur Physiologie der Amphibien schilddrüse. *Pfluger's Archiv.*, 1916, 164, p. 1.

17. Adolph (E.-F.). — Changes in the physiological regulation of body volume in rana pipiens during ontogeny and metamorphosis. *J. of exper. Zool.*, 1927, 47, 179.

18. Adolph (E.-F.). — *J. Exper. Zoology*, 1927, 97, p. 162.

19. Allen (B.-M.). — Extirpation experiments in Rana pipiens larvae. *Science*, 1916, 44, p. 755.

20. Allen (B.-M.). — Effects of the extirpation of the anterior lobe of the hypophysis of Rana pipiens. *Biol. Bull.*, 1917, 32, p. 117.

21. Allen (B.-M.). — The results of thyroid removal in the larvae of rana pipiens. *Journ. of Exp. Zool.*, 1918, 24, p. 499.

22. Allen (B.-M.). — Development of the thyroïd glands of Bufo and their normal relation to metamorphosis. *Journ. of Morphol.*, 1919, 32, p. 489.

23. Allen (B.-M.). — The relation of the pituitarg and thyroïd glands of Bufo and Rana to iodine and metamorphosis. *Biol. Bull.*, 1919, 36, p. 405.

24. Allen (B.-M.). — Experiments on the transplantation of the hypophysis of adult Rana pipiens to tadpoles. *Science*, 1920, 52, p. 274.

25. Allen (B.-M.). — The effects of transplantation of the several parts of the adult hypophysis into tadpoles of Rana pipiens. *Anat. Record*, 1921, 20, p. 192.

26. Allen (B.-M.). — La différence fonctionnelle entre la partie intermédiaire et la partie nerveuse de l'hypophyse de grenouille. *Proc. Soc. F. Exp. Biol.*, 1929, I, p. 11.

27. Allen (B.-M.). — Effet de la thyroxine sur les têtards normaux, hypophysectomisés et thyroïdectomisés. *Proc. Soc. f. exp. Biol.*, 1929, 27, p. 35.

28. Allen (B.-M.). — The influence of the thyroïd gland and hypophysis upon growth and developpement of amphibian larvae. *Quart. Rev. Biol.*, 1929, 4, p. 325.

29. Allen (B.-M.). — Origine de l'hormone pigmentaire de l'hypophyse des amphibiens. *Proc. Soc. exper. Biol. and ned.*, 1931, 17, p. 504.

30. Allen (B.-M.). — Du rôle de l'hypophyse dans le début de la métamorphose du crapaud. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, 1931, 29, p. 74.

31. Alphonse (P.). et Beaumann (G.). — Action de doses massives de thyroxine sur le développement des membres postérieurs de Bufo vulgaris. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 113, p. 1397.

32. Alphonse (P.) et Baumann (G.). — Indifférence de la peau de jeunes têtards de Bufo vulgaris vis à vis de fortes doses de thyroxine. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 117, p. 567.

33. Alphonse (P.) et Baumann (G.). — Etude histologique de la perforation de l'opercule branchial dans la métamorphose des Batraciens anoures accélérée par la thyroxine. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 117, p. 970.

34. Alphonse (P.) et Baumann (G.). — Preuve expérimentale de la perforation de l'opercule branchial par suite des troubles vasculaires, lors de la métamorphose des Anoures provoquée par la thyroxine. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 117, p. 1075.

35. Alphonse (P.) et Baumann (G.). — Comportement des cellules endothéliales dans la perforation de l'opercule branchial sous l'action de la thyroxine. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 117, p. 1158.

36. Alphonse (P.) et Baumann (G.). — *Arch. d'anat. histol. et embryol.*, 1935, 19, p. 267.

37. Alphonse (P.) et Baumann (G.). — L'action de la thyroxine sur les têtards de Batraciens anoures dépend-t-elle de la durée du séjour dans les solutions. *C.R. Soc. Biol.*, 1935, 119, p. 1243.

38. Andrik (L.) et Kucera (C.). — L'influence de l'irradiation par les rayons ultra-violets et l'administration de l'iode sur la valeur biologique du lait. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 113, p. 622.

39. Arager (J.). — Remarque sur le rôle de l'eau dans le processus du développement. *C.R. Soc. Biol.*, 1925, 92, p. 1267.

40. Arager (J.). — Action de la famine sur le développement de la gonade des embryons d'Amphibiens. *C.R. Soc. Biol.*, 1925, 93, p. 342.

41. Aron (M.). — Dégénérescence du pancréas au cours de la métamorphose chez *Rana esculenta*. Régénération consécutive de l'organe. *C.R. Soc. Biol.*, 1925, 93, p. 678.

42. Aron (M.). — Rôle du système nerveux dans la croissance des larves d'Anoures. Existence d'un centre de croissance. *C.R. Soc. Biol.*, 1927, 96, p. 271.

43. Aron (M.). — Facteurs nerveux et facteurs humoraux de la croissance chez les larves d'Anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1927, 96, p. 624.

44. Aron (M.). — Le fonctionnement du pancréas chez les larves d'Amphibiens. *C.R. Soc. Biol.*, 1928, 99, p. 213.

45. Aron (M.). — Corrélation fonctionnelle entre la glande thyroïde et le pancréas endocrine chez les larves d'Amphibiens. *C.R. Soc. Biol.*, 1928, 99, p. 215.

46. Aron (M.). — Motilité et croissance des larves d'Amphibiens. *C.R. Soc. Biol.*, 1929, 101, p. 192.

47. Aron (M.). — Rôle du système nerveux central dans la croissance embryonnaire. Recherches chez les Batraciens. *Arch. Biol.*, 1929, 39, p. 609.

48. Aron (M.). — Les facteurs internes de la croissance. Hormones et systèmes nerveux. *R. fr. Endocr.*, 1929, 7, p. 269.

49. Aron (M.). — Les formes embryonnaires. Formes, vie et pensée (groupe lyonnais d'études médicales, philosophiques et biologiques). Lavandier, édit., Lyon, 1933.

50. Aron (M.) et Alfonsi (N.). — Recherches sur l'histogénèse et la physiogénèse comparées des îlots pancréatiques endocrines des Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1924, 91, p. 609.

51. Aron (M.) et Grassé (P.). — Biologie animale. Masson, édit., 1939.

52. Asimoff (G.). — Zur biologischen Kontrolle des Antithyreokrins. *Pfluger's Archiv.*, 1926, 215, p. 191.

53. Atwel (W.-J.). — *Science*, 1919, 49.

54. Atwell (W.-J.). — Effets de l'administration d'extrait adrenotropique aux têtards hypophysectomisés et thyroïdectomisés. *Amer. J. Physiol.*, 1937, 118, p. 452.

55. Babak (E.). — Uber die funktionnelle Anpassung der aüsseren Kiemen beim Sauerstoffmangel. *Zentralbl. f. Physiol.* Bd. 21, 7, 1907.

56. Babak (E.). — Einige Gedanken über die Beziehung der metamorphose beiden Amphibian zur inneren sekretion. *Ztrbl. fur Physiol.*, Bd. 10 (d'après Adler), 1913.

57. Backman (E.-L.), Sundberg (C.-G.) et Janson (C.). — Sur l'importance de l'oxygène pour l'augmentation de la pression osmotique chez les embryons de *Rana Temporia*. *C.R. Soc. Biol.*, 1914, 76, p. 556.

58. Bang (I.) et Overton. — *Bioch. Zeitsch.*, 1911, 21, p. 241.

59. Barfuth (D.). — Versuche über die Verwandlung der Froschlarven. *Archiv. f. mick anat.*, 1887, 29, p. 1.

60. Barfuth (D.). — Die Ruck bildung des froschlarvenschwanzes und die sog. Sarcoplasten. *Archiv. f. mick. anat.* 1887, 29, p. 35.

61. Barfuth (D.). — Der hunger als fôrderndes Princip in der natur. *Archiv. f. mik. nat.* 1887, 29.

62. Bataillon (E.). — Recherches expérimentales sur la métamorphose des Anoures. *C.R. Acad. Sc.* 1889.

63. Bataillon (E.). — Recherches anatomiques et expérimentales sur la métamorphose des Amphibiens Anoures. *Thèse doct. Sciences*, Paris, 1891.

64. Baum. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1899, 42, p. 119.

65. Baumann (G.). — Régression de l'extrémité caudale lors de la métamorphose précoce provoquée par la thyroxine chez de très jeunes larves d'un Urodele, l'Axolotl. *C.R. Soc. Biol.*, 1936, 122, p. 407.

66. Belehradek, *C.R. Soc. Biol.*, 1922, 86, p. 811.

67. Belehradek. *Arch. Inter. Physiol.*, 1925, 22, p. 376.

68. Belehradek (J.) et Huxley (R.-S.). — Sur la pénétration d'iode libre dans l'organisme des larves d'Amphibiens. *C.R. Soc. Biol.*, 1927, 96, p. 1426.

69. Belehradek (J.) and Huxley (J.-S.). — Changes in oxygene consumption during metamorphoses induced by thyroïd administration in the axolotl. *Journ. of Physiol.*, 1927, 64, p. 267.

70. Belehradek (J.) et Schwarz (F.). — L'action toxique des acides de la série formique en relation avec l'adaptation de l'organisme. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, 10, p. 909.

71. Belehradek (J.) et Stoklasa (J.). — Nouvelles recherches sur la stimulation de la croissance des têtards par l'administration de muscles fatigués. *C.R. Soc. Biol.*, 1930, 103, p. 642.

72. Belkin (R.). — L'influence de la quinine sur l'activité de l'hormone thyroïdienne. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 113, p. 1084.

73. Belkin (R.). — Influence d'un extrait hypophysaire sur la régénération de l'Axolotl. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 115, p. 111.

74. Belkin (R.). — Influence de la température sur la métamorphose provoquée par la thyroïdine chez *Rana Temporia*. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 115, p. 1034.

75. Belkin (R.). — Influence inhibitrice de l'antithyroïdine sur la métamorphose provoquée par la thyroïdine chez les Axolotl. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 115, p. 1161.

76. Belkin (R.). — Influence de la température sur la métamorphose provoquée par la thyroïdine chez l'Axolotl. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 115, p. 1563.

77. Bernard (Cl.). — Les phénomènes de la vie, Paris 1879.

78. Bialaszewicz (K.). — L'influence de la pression osmotique sur la vitesse du développement des embryons. *Tow. Nank. Warsz.*, I, nº 7, 1921.

79. Bialaszewicz (K.) et Mincowna (M.). — Sur le métabolisme des principes gras et azotés aux premiers stades du développement de la Grenouille. *Tow. Nank. Warsz.*, I, nº 11, 1921.

80. Bierich. — *Pflüger's Arch.*, 1919, 174, p. 202.

81. Billard (G.). — Sur la valeur nutritive des albumines étrangères et spécifiques. *C.R. Soc. Biol.*, 1910, 68, p. 1103.

82. Billard (G.). — Les têtards de Grenouille réactifs biologiques pour l'étude des vitamines de croissance. *Journ. Physiol. et Pathol. gen.*, 1920, 20, p. 182.

83. Bilsky (F.). — Ueber den einfluss des Lebensraumes auf das Wachstum der Kaul quappen. *Pflüger's Archiv.*, 1921, 188, p. 254.

84. Bilsky (F.). — Ueber den einfluss des suprarenins auf das Wachstum der Kaul quappen. *Pflüger's Archiv.*, 1921, 191, p. 108.

85. Binet (L.) et Magrou (J.). — Soufre et croissance. *C.R. Acad. Sc.*, 1931, 193, p. 115.

86. Blacher (L.) und Belkin (R.). — Der einfluss von krystallinischen Jod auf die Metamorphose der Axolotlen. *Trudy laboratorii eksperimental noj biologie Moskowskgo zooparka*, 1927, 3, p. 83.

87. Blanchard (L.), Penau (H.) et Simonnet (H.). — La thyroïde. *Les presses universitaires de France*, Paris 1932.

88. Bohn (G.). — Influence des rayons du radium sur les animaux en voie de croissance. *C.R. Acad. Sc.*, 1903, 136, p. 1012.

89. Bohn (G.). — Influence de l'inanition sur les métamorphoses. *C.R. Soc. Biol.*, 1904, 56, p. 661.

90. Bohn (G.). — Influence des variations de l'éclairement sur les premiers stades des amphibiens. *C.R. Soc. Biol.*, 1904, 56, p. 767.

91. Bohn (G.). — Intervention des influences passées dans les mouvements actuels d'un animal. *C.R. Soc. Biol.*, 1904, 56, p. 789.

92. Bohn (G.). — Intervention des influences passées dans la résistance à l'inanition d'un animal. *C.R. Soc. Biol.*, 1904, 56, p. 791.

93. Bohn (G.). — Leçons de Zoologie et Biologie générale VI. — Les vertébrés inférieurs. Paris, 1934, Hermann, édit.

94. Boulenger (G.-A.). — Les Batraciens, 1 vol. in-8, 306 p., Paris 1910, chez Doin.

95. Brendgen (P.). — Ueber die Kunstlich erzielte metamorphose der Alytes-larven (Thyroïde afutterung). *Anat. Anz.* 1914, 46, p. 613.

96. Brinley (Flyod J.). — Effet de la caféine sur la consommation d'oxygène des poissons et des têtards. *J. Pharm. A. exp. Ther.*, 1931, 42, p. 59.

97. Calvet (J.). — L'épiphyse. Baillière, édit., Paris 1934.

97. Carnot (P.). — Activation du développement par les extraits embryonnaires. *C.R. Soc. Biol.*, 1923, 89, p. 34.

98. Carnot (P.). — Présentation de lots de têtards à croissance amplifiée par les extraits embryonnaires. *C.R. Soc. Biol.*, 1926, 95, p. 392.

99. Champy (Ch.). — Action excitante de la thyroïde sur certaines zones germinatives localisées. *Congrès de physiologie*, Paris 1920.

100. Champy (Ch.). — L'action de l'extrait thyroïdien sur la multiplication cellulaire. Caractère électif de cette action. *Arch. de Morphologie*, 1921, 4.

101. Champy (Ch.) et Gley (P.). — Influence des vitamines et des acides aminés sur la croissance des larves de Grenouilles. Comparaison avec l'influence de la thyroïde. *C.R. Soc. Biol.*, 1923, 89, p. 374.

102. Champy (Ch.). — Sexualité et hormone. O. Doin, Paris, 1924.

103. Chauvin (M.-O.). — Ueber die Verwandlung des mexikanischen Axolotl in Amblystoma. *Ztzchr. Wissensch. Zool.*, 1875, 25, p. 27.

104. Chauvin (M.-O.). — Ueber die Fort pflanzung des Amblystoma. *Zool. Auzeiger.*, 1883, p. 513.

105. Chauvin (M.-O.). — Ueber die Verwandlungsfähigkeit des mexikanischen Axolotl. *Ztschr. Wissensch. Zool.*, 1885, p. 41.

106. Chomkovic. — *Pflüger's Arch. f. Physiol.*, 1926, 24, p. 666.

107. Cooksey (W.-B.). — Changes produced in the larval brain of rana pipiens by thyroïd feeding. *Endocrinology*, 1922, 6, p. 393.

108. Cord (Mac.) and Allen. — Evidences associating pineal gland function with alterations in pigmentation. *Journ. of. Exp. Zool.*, 1917, 23, p. 207.

109. Cord (Mc. C.-P.) et Marinus (C.-F.). — *Endocrinology*, 1918, p. 289.

110. Cotronei (G.). — Première contribution expérimentale à l'étude des rapports des organes dans la croissance et dans la métamorphose des amphibiens Anoures. L'influence de la nutrition avec la thyroïde des Mammifères. *Arch. Ital. de Biol.*, 1914, 61, p. 305.

111. Cotronei (G.). — Corrélations humorales et nerveuses dans le développement larvaire et dans la métamorphose des Amphibiens anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1927, 96, p. 831.

112. Crisan (C.). — Les troubles de la pigmentation de la peau du têtard de Grenouille après ingestion d'hyphophyse fraîche de Bœuf. *C.R. Soc. Biol.*, 1935, 118, p. 1503.

113. Cuenot (L.). — *In thèse Mercier*, doct. ès sciences. Nancy, 1908.

114. Cutting (C.-C.) et Tainter (M.-L.). — Action comparée de la thyroxine et du dinitrophenol sur la métamorphose du têtard. *Proc. Soc. exper. Biol.*, 1933, 31, p. 97.

115. Dadlez (J.) et Koskowski (W.). — Sur une substance active isolée des poumons. *C.R. Soc. Biol.*, 1931, 107, p. 75.

116. Dastugue (G.). — Propriétés biologiques des eaux minérales de Châteauneuf-les-Bains (Puy-de-Dôme). *Ann. Int. Hydr. Paris*, 1933, 30.

117. Dodel (P.) et Jouve (P.). — Action des chlorures de manganèse, de calcium, de sodium et de magnésium, sur la croissance globale et la croissance morphogène des larves d'Amphibiens (*Rana temporaria*). *C.R. Soc. Biol.*, 1930, 104, p. 1159.

118. Dodel (P.). — Action de quelques eaux minérales sur la croissance des larves d'Amphibiens. *Ann. Inst. Hydr.*, 1932, 29.

119. Dodel (P.) et Dastugue (G.). — Sur la possibilité d'une assimilation d'azote ureique par l'organisme animal. *Bull. Doct. Phcie*, 1936, 4, p. 117.

120. Dodel (P.) et Dastugue (G.). — Influence de quelques produits endocriniens et de quelques alcaloïdes sur la croissance des larves d'Amphibiens. *Clermont-Médical*, 1938, 50, p. 37.

121. Dodel (P.) et Dastugue (G.). — Influence de la colchicine sur la croissance des larves d'Amphibiens. *Clermont-Médical*, 1939, 64, p. 31.

122. Dodel (P.), Dastugue (G.) et Thonier (M.). — Contribution à l'étude pharmacodynamique du manganèse : recherches sur l'animal. *C.R. Soc. Phys. Biologique*, 1941, 47, p. 7.

123. Doetsch (H.). — L'influence de la thyroïde sur le développement et la croissance de larves d'amphibies dans diverses conditions de nutrition. *Zeit. ges. exp. Med.*, 1938, 103, p. 163.

124. Dragoiu (J.) et Faure-Fremiet (E.). — Divers aspects de la cellule hépatique chez les têtards de *Rana Temporaria* nourris avec de la thyroïde. *C.R. Soc. Biol.*, 1921, 85, p. 434.

125. Dragoiu (J.) et Faure-Fremiet (E.). — Etude histologique des phénomènes provoqués chez le têtard de *Rana Temporaria* par l'alimentation thyroïdienne. *C.R. Soc. Biol.*, 1921, 85, p. 437.

126. Drastich (L.). — On the functional adaptation of the respiratory surface of the amphibians. *Publ. Fac. Med. Brno*, 1922.

127. Drastich (L.). — Métabolisme chez les larves de Salamandre cultivées sous des pressions partielles d'oxygène différentes. *Publ. Fac. Med. Brno*, 1923.

128. Drastich (L.). — Influence de la pression propre de l'oxygène sur le métabolisme des larves de *salamandra maculosa*. Laur. *C.R. Soc. Biol.*, 1925, 92, p. 1666.

129. Drastich (L.). — Ueber das Leben der Salamandra-Larven bei hohein und niedrigem Sauerstoffpartialdruck. *Zeitschr. f. wissensch. Biologie, Abt C.* Bb., 1925, 2, p. 632.

130. Drastich (L.). — Sur l'économie de la nutrition sous des pressions différentes d'oxygène. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, 8, p. 508.

131. Drzewicki (S.). — La métamorphose partielle de la peau des têtards de *Pelobates fuscus* Laur, sous l'influence de quantités minimales de substances de la glande thyroïde. *C.R. Soc. Biol.*, 1924, 90, p. 1364.

132. Drzewicki (S.). — Sur la métamorphose des batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1935, 118, p. 1603.

133. Drzewina (A.) et Bohn (G.). — De l'action de l'eau de mer et du chlorure de sodium sur la croissance des larves des Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 62, p. 880.

134. Drzewina (A.) et Bohn (G.). — Action tératogène des solutions salines sur les larves de Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 62, p. 1060.

135. Drzewina (A.) et Bohn (G.). — Influence du chlorure de lithium sur les larves de Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 62, p. 1150.

136. Drzewina (A.) et Bohn (G.). — Variations de la résistance à l'inhibition des oxydations, chez *Rana Fusca* aux divers stades larvaires. *C.R. Soc. Biol.*, 1912, 72, p. 908.

137. Drzewina (A.) et Bohn (G.). — Effets de l'inhibition des oxydations chez les embryons et têtards de *Rana Fusca*. *C.R. Soc. Biol.*, 1912, 72, p. 970.

138. Drzewina (A.) et Bohn (G.). — Variations de la résistance aux hautes températures au cours du développement de la Grenouille. *C.R. Soc. Biol.*, 1919, 82, p. 778.

139. Durand (J.). — Recherches sur l'élimination des perchlorates, sur leur répartition dans les organes et sur leur toxicité. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1938, 20, p. 423.

140. Dustin (A.-P.). — Influence d'une alimentation riche en nucléïne sur la régénération saisonnière du thymus de la Grenouille adulte. *C.R. Soc. Biol.*, 1919, 82, p. 1068.

141. Emmet (A.-D.) and Allen (F.-P.). — Nutritional studies on the growth of frog larvae (*Rana pipiens*). *Journ. Biol. chem.*, 1919, 39, p. 325.

142. Emmet (A.-D.), Allen (F.-P.) and Sturtevant (M.). — Relation of vitamines and iodine to the size and development of the tadpole. *Journ. Biol. chem.*, 1920, 41.

143. Eskin (J.-A.). — L'influence des surrénales sur la métamorphose des Amphibiens. *Endokr.*, 1932, 11, p. 249.

144. Etkin (W.). — Phénomènes de croissance et de résorption dans les métamorphoses des Anoures. *Phys. Zool.*, 1932, 5, p. 275.

145. Etkin (W.). — Le phénomène de métamorphose chez les Anoures. *Phys. Zool.*, 1934, 2, p. 129.

146. Farkas (G.) und Taugl (H.). — Die wirkung des Cholins auf kaulquappen. *Biol. Ztschr.*, 1925, 166, p. 95.

147. Faure-Fremiet et du Vivier de Streel. — Les constituants chimiques de l'œuf et leur rôle dans le développement embryonnaire chez la Grenouille rousse (*Rana temporaria*). *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1921, 3, p. 476.

148. Federighi. — Changements de couleur dans la peau de têtard transplantée. *Phys. Zool.*, 1934, 3, p. 271.

149. Fontes (G.) et Aron (M.). — Mode d'action qualitative et quantitative de la thyroxine synthétique. Son influence sur la métamorphose des larves d'Anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1929, 102, p. 679.

150. Fredericq (H.). — Cours de physiologie générale. Masson, édit., Paris 1939.

151. Fulton (J.-F.). — The controlling factors in amphibian métamorphosis : a review. *Endocrinology*, 1921, 5, p. 67.

152. Gaddum (J.-H.). — Observations quantitatives sur la thyroxine et les substances voisines. I. Emploi des têtards. *Journ. of Physiol.*, 1927, 64, p. 246.

153. Gallien (L.). — Action masculinisante du propionate de testostérone dans la différenciation du sexe chez *Rana temporaria*. *C.R. Acad. Sc.*, 1937, 205, p. 375.

154. Gallien (L.). — Action du benzoate de dihydrofolliculine dans la différenciation du sexe chez *Rana temporaria*. *C.R. Acad. Sc.*, 1938, 206, p. 282.

155. Gallien (L.). — Sur les conditions d'utilisation des solutions huileuses d'hormones sexuelles par les têtards de Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1939, 131, p. 1201.

156. Gallien (L.). — Stérilisation des gonades et atrophie du rein chez les têtards de *Rana temporaria* sous l'action mécanique d'une solution hormonique huileuse. *C.R. Soc. Biol.*, 1940, 134, p. 565.

157. Gallien (L.). — Rôle du solvant et de la méthode d'administration de la di-hydrofolliculine dans la différenciation du sexe chez les Batraciens. *Acad. Sc.*, 2 déc. 1940.

158. Gallien (L.). — Sur l'action amphisexuelle de la dihydrofolliculine dans la différenciation du sexe chez les Batraciens. *Acad. Sc.*, 16 déc. 1940.

159. Garber (S.-T.). — Métamorphose de l'Axolotl après extirpation du poumon. *Phys. Zool.*, 1930, 3, p. 373.

160. Gayda (T.). — Ricerche di calorimetria. V. La produzione di calore nel girini alimentati con tiroide contisso. *Arch. di Fisiol.*, 1921, 19, p. 267.

161. Gelma (E.) et Aron (M.). — Action comparée de la morphine et de la malonylurée sur le développement des larves d'Anoure. *C.R. Soc. Biol.*, 1926, 95, p. 696.

162. Gessner (O.). — Sur la synthaline I. Action de la synthaline sur la métamorphose des têtards soumis à l'action de la thyroïne. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1928, 127, p. 223.

163. Gessner (W.). — Die Einwirkung von Insulin, Cholin, Muscarin, pilocarpin und atropin auf die durch Schilddrusen gaben zu erswingende metamorphose von amphibien larven sowie uber die Wirkung des Jodothyrins auf amphibien larven. *Ztzchr. fur. Biol.*, 1927, 86, p. 67.

164. Gessner (W.). — Weitere Beitrage zur frage der beeinflussung der durch thyraden hervorgorufenen und der naturlichen metamorphose von amphibien larven durch parasympathicotrop und sympathicitrop wirkende pharmaka. — *Ztschr. Fur Biol.*, 1927, 87, p. 228.

165. Giacomini (E.). — Precoci metamorfosi degli axolotl per effetto della somnurstrazione di glandula tiroidea. *Rendiconti delle sess. R. Ac. Scienze Instit.* Bologna, 1924-1925, 29, p. 47.

166. Giacomini (E.). — Effeti delle milza e del fezato iodati di aguello e degli organi di polli trattati contali sostauze sulla metamorfosi degli axolotl. *Bull. Soc. ital. Biol. sperm.*, 1928, 3, p. 92.

167. Godonnèche (J.) et Dastugue (G.). — Etude de l'action des eaux arsenicales de La Bourboule sur la germination des graines et la croissance des larves de Batraciens. *Bull. Soc. Chimie Biol.*, 1934, 16, p. 248.

168. Grab (W.). — Apparition des substances thyroïdiennes dans le sang après l'action d'antehypophyse. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1932, 98, p. 715.

169. Graham (A.). — Study of the physiological activity of adenomata of the thyroïd glands in the relation to their iodine content, as evidenced by feedung experiments on tadpoles. *Journ. of exp. Med.*, 1916, 24, p. 345.

170. Groebbels (F.). — Unzureichende Ernahrung und hormonwirkung . Untersuchungen uber den effekt den gegenseitigen Beeinglussung unzureichender ernahrung und Schilddrusenfutterung auf das Wachstum und die Entwicklung von Froschlarven. *Ztschr. fur Biol.*, 1922, 75, p. 91.

171. Groebbels (F.). — Die Bezuhungen zwischen unzureichender Ernharung und thymus Wakung bei Larven von *Rana temporaria*. *Zeitsch. f. Biol.*, 1922, 77, p. 249.

172. Groebbels (F.). — Unzureichende Eruahrung und hormonwirkung. Der Eunflusseiniger vitaminhaltiger Nahrstoffkomplexe auf das wachstum und die etnwicklung von Froschlarven. *Ztschr. fur Biol.*, 1923, 78, p. 7.

173. Gudernatsch (J.-F.). — Feeding experiments on tadpoles. I. The influence of specific organs given as food on growth and differentiation a contribution to the knowledge of organs with internal secretion. *Arch. fur Entwicklungsmech*, 1912, 35, p. 457.

174. Gudernatsch (J.-F.). — Feeding experiments on tadpoles. *Ann. Journ. Anat.*, 1914, 15, p. 431.

175. Gudernatsch (J.-F.). — Studies on internal secretion. IV. Treatment of tadpoles with thyroïd and thymus extracts. *Anat. Record.*, 1917, 11, p. 357.

176. Gudernatsch (F.) et Hoffmann (O.). — Le rôle des acides aminés dans le processus de croissance et de différenciation. I. Développement des amphibiens. *Klin. Wochft.*, 1931, 10, p. 1802.

177. Guidi (G.). — Acque minerali e ghiandole a secrezione interna azione delle acquedi Salsomaggiore sullo sviluppo e la metamorfosi delle larve d'anfibio. *Roma, Luigi Pozzi, édit.*, 1937.

178. Guieysse (A.). — Etude de la régression de la queue chez les têtards des Batraciens anoures. *Arch. Anat. miscrop*, 1905, 7.

179. Gunthorp (H.). — Résultats obtenus en nourrissant des têtards avec des glandes thyroïdes de vertébrés variés. *Phys. Zool.*, 1932, 3, p. 397.

180. Gurber (A.) und Gessner (O.). — Weitere Untersuchungen uber Antithyroidin Moebius. *Archiv. Fur exp. Pathol. Pharmakol.*, 1928, 129, p. 370.

181. Haffner (F.) et Wind (F.). — Accoutumance aux Hypnotiques. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1926, 116, 125.

182. Hahn (A.). — Einige Beobahtungen an Riesen larven von Rana esculenta. *Arch. Mikr. Anat.*, 1912, 80, p. 1.

183. Harden (H.), and Zilva (S.-S.). — Dietetic experiments with grog. *Bioch. Journ.*, 1920, 14, p. 263.

184. Haskins (M.). — Extirpation and transplantation of the thymus in larve of rana sylvatica. *Endocrinology*, 1921, 5, p. 763.

185. Hausberger (F.-X.). — Sur l'action de la thyroxine sur la régénération des branchies énervées d'un côté de l'axolotl. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1937, 186, p. 326.

186. Hedon. — *Arch. Intern. de Pharmac.*, 1901, 8, p. 381.

187. Hedon. — Toxicité des glycosides hémolytiques pour les poissons et actions antitoxiques. *C.R. Soc. Biol.* 1901, p. 391.

188. Helff (O.-M.) et Clausen (H.-J.). — Recherches sur la métamorphose des Batraciens. V. Atrophie des muscles caudaux des Anoures pendant la métamorphose. *Phys. Zool.*, 1929, 2, p. 575.

189. Helff (O.-M.) et Stubblefield (K.-I.). — Influence de la tension d'oxygène sur la consommation d'oxygène des têtards de *Rana Pipiens. Phys. Zool.* 1931, 4, p. 271.

190. Heron-Boyer (L.-P.). — Remarques et expériences sur le développement du têtard de la Grenouille rousse (*Rana fusca*). *Bull. Soc. Et. Sc. Angers*, 1877.

191. Heron-Boyer (L.-P.). — Cas teratologiques observés chez quelques têtards de Batraciens anoures et de la possibilité de prolonger méthodiquement l'état larvaire chez les batraciens. *Bull. et Mém. soc. Zool. de France*, 1884, 9, p. 162.

192. Hertwig (G.). — *Anat. Anz.*, 1924, 58.

193. Hertwig (O.). — *Arch. f. microsk. anat.*, 1898, t. 51.

194. Hirschler (J.). — Ueber Erzwingung und Beschleunigung der amphibien metamorphose mittles Jod. *Arch. fur Entwicklungsunech*, 1922, 51, p. 482.

195. Hirschlerowa(Z.).— Mikroskoopisch anatomische Untersuchungen a der amphibiens childdruse mit besouderer Berucksichtigung ihres Golgi. Apparates *Ztzchr. Zellfoesch mikroskop Anat.*, 1927, 6, p. 234.

196. Hoffman (O.) et Gudernatsch (F.). — Différenciation sous l'action de la biiodotyrosine additionnée de certains autres acides aminés. *Endocr.*, 1930, 17, p. 239.

197. Hogben (L.-T.). — Studies of Internal secretion I. The effect of pituitary (antérior lobe). Injection upon normal and thyroïdectomised axolotl. *Procedec. Roy. Soc. Ser. B.* 1923, 94, p. 204.

198. Hoskins (E.) and Hoskins (M.). — Experiments with the thyroïd hypophysis and pineal glands on rana sylvatica. *Anat. Record.*, 1919, 16, p. 151.

199. Hoskins (E.-R.) and Hoskins (M.-M.). — Growth and developpement of amphibia as effected by thyroidectomy. *Journ. of exp. Zool.*, 1919, 29, p. 1.

200. Hoskins (E.-R.) and Hoskins (M.-M.). — The interrelation of the thyroid and hypophysis in the growth and development of frog larvae. *Endocrinology*, 1920, 4, p. 1.

201. Hoskins (M.). — The affect of acetylthyroxine on the newborn white rat. *Journ. of exper. Zool.*, 1927, 48, p. 373.

202. Hoskins (M.). — The effect of acetylthyroxine on the teeth of newborn rats. *Proceed. Soc. exp. Biol. Med.*, 1927, 25, p. 55.

203. Houssay (B.-A.), Guisti (L.) et Lascano-Gonzalez (J.-M.). — Implantation d'hypophyse et stimulation sexuelle chez le crapaud. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 1929, 5, p. 397.

204. Huxley (J.-S.). — Experiments with thyroid preparations on amphibia. Standardisation by means of axolotls. Metamorphosis under narcosis. Tissue specificity. *Quart. Journ. exp. Physiol.*, 1923, supplém. Vol. 153.

205. Huxley (J.-S.). — Studies on amphibian métamorphosis. *Proced. Roy. Soc. B.*, 1925, 98, p. 113.

206. Huxley (J.-S.) and Hogbein (L.-T.). — Experiments on Amphibian Metamorphosis and pigment responses in relation to internal secretions. *Proceed. Roy. Soc. Ser. B.*, 1922, 93, p. 36.

207. Hykes (O.-B.). — Sur l'absorption des matières grasses par la peau de la grenouille. *C.R. Soc. Biol.*, 1928, 98, p. 1038. *Public. Ec. Veter.*, Brno, 1922, 1, p. 301.

208. Hykes (O.-V.). — Effet de l'action simultanée des emanations du radium et de l'absorption de glande thyroïde sur la croissance et la métamorphose des têtards. *C.R. Soc. Biol.*, 1936, 121, p. 1643.

209. Hykes (O.-V.) et Wagner (J.). — L'accélération de la métamorphose des têtards par le produit de la perfusion thyroïdienne. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 113, p. 625.

210. Ingram (W.-R.). — Interrelation of pituitary and thyroid in metamorphosis of neotenic amphibians. *Proceed. Soc. Biol. and Med.*, 1928, 25, p. 730.

211. Ingram (W.-R.-S.). — Studies on amphibian neotony ; metamorphosis of colorado axolotl by injection of in organic iodine. *Proceed. Soc. Biol. Med.*, 1928, 26, p. 191.

212. Jarisch (A.). — Ueber die Wirkung der Schilddruse auf Kaulquappen. *Pfluger's Archiv.*, 1920, 179, p. 159.

213. Jensen (C.-O.). — Ved thyroïden praeparater frenkald forwandlung tros Axolotl'en. *Oversigt Kgl. danske vidensk, Selsk. Forjandl.*, 1916, 3, p. 251.

214. Jensen (C.-O.). — Recherches sur la provocation artificielle de la métamorphose chez les Batraciens et notamment chez l'axolotl. Mesure biologique de l'efficacité des préparations thyroïdes. *C.R. Soc. Biol.*, 1920, 83, p. 315.

215. Jensen (C.-O.). — La glande thyroïde et les anomalies de métamorphose chez les Anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1920, 83, p. 948.

216. Jensen (C.-O.). — Demi-métamorphose chez l'*Amblystoma mexicanum*. *C.R. Soc. Biol.*, 1921, 84, p. 423.

217. Jensen (C.-O.). — Métamorphose provoquée par l'injection de préparation thyroïdiennes et de thyroxine à des Axolotls ayant subi la thyroïdectomie. Toxicité élevée des combinaisons iodées dans le cas d'animaux thyroïdectomisés. *C.R. Soc. Biol.*, 1921, 85, p. 391.

218. Kahn (R.-H.). — Zur frage der wirkung von Schilddruse und thymus auf froschlarven. *Pfluger's Archiv.*, 1916, 163, p. 384.

219. Kahn (R.-H.). — Ueber Schilddrusen futterung an Wirbellosen. *Pfluger's Archiv.*, 1921, 192, p. 81.

220. Kahn (R.-H.). — Zur Futterungs Wirkung von Schilddruse und Jod praparaten auf Froschlarven. *Pfluger's Archiv.*, 1924, 205, p. 404.

221. Kaufman (L.). — Researches on the artificial métamorphosis of axolotls. *Bull. Internat. Ac. Sc. Cracovie*, 1918, B. p. 37.

222. Keysselitz. — *Munich. med. Wochensch.*, 1925, 70, p. 1155.

223. Kofler (L.). — Die Saponine. *Springer édit.*, Wien, 1927.

224. Kollmann (M.). — Quelques précisions sur l'accélération de la métamorphose des Batraciens anoures sous l'influence de l'extrait de thyroïde. *C.R. Soc. Biol.*, 1919, 82, p. 1009.

225. Kopec (S.). — *Mém. Inst. Nat. Polonais econ. rurale.*, 1922, 3.

226. Kopec (S.). — L'administration des tissus d'organismes morts d'inanition peut-elle exercer un effet sur le développement des animaux. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 112, p. 1459.

227. Kopf. — Ueber Hormon und Minéral Wasser wirkung. *Deut. medz. Wochuschr*, 1925, 51, p. 725.

228. Kosmina (N.). und Resnicenko (M.). — Ueber den Einfluss der Ca und K ionen auf die Wirksam Keit des Thyroxius. *Trudy laboratorii eksperimentalung biologi moskows kogo zooparka*, 1927, 3, p. 9.

229. Kostitch (A.). — Quelques acquisitions expérimentales nouvelles concernant le rôle de la rate. *Presse Médicale*, 1938, 34, p. 683.

230. Kreitmair (H.). — Jodgehalt und Schilddrusenwirkung, Zugleich, Bekaunt gabe einer biologischen Wertbestinimungs. Methode fur Schilddrusen praparate. *Ztschr. ges. Exp. Med.*, 1928, 61, p. 202.

231. Kreitmair (H.). — Jodgehalt und Schilddrusenwirkung. *Endokrinology*, 1929, 5, p. 333.

232. Krichesky (B.). — La réponse de la larve de *Rana catesbeiana* aux injections d'antuitrine S et de phyone. *Phys. Zool.* 1934, 2, p. 178.

233. Krizenecky (J.). — Ueber den Einfluss des Hyperhypophysismus auf das Wachstum die Entwicklung und pigmentation der Amphibien larven. *Arch. fur mikros anat. und Entwicklungs mechan*, 1924, 101, p. 621.

234. Krizenecky (J.). — Das gefieder des Geflügels in seiner Abhangigkeit von den Drusen mit innerer sekretion Die Bedentung der Schilddruse und der thymus beider Befiederung der Kuken. *Arch. Fur Geflugelkunde*, 1927, 45, p. 94.

235. Krizenecky (J.) et Petrov. — *Arch. f. Ent. Mech.*, 1926, p. 299.

236. Kroszczynski (S.). — L'action de l'insuline sur les têtards. *C.R. Soc. Biol.*, 1924, 91, p. 964.

237. Kroszczynski (S.) et Modrakowski (G.). — La thyroïde et l'action antagoniste de la quinine. *C.R. Soc. Biol.*, 1925, 93, p. 939.

238. Kucera (C.) et Soos (M.). — Sur la valeur biologique du lait de chèvres normales et thyreoprives irradiées par la lampe à mercure. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 113, p. 169.

239. Labes (R.). — Ein Beitrag zur Frage der permeabilitat. *Biochem. Z.* 1922, 130, p. 14.

240. Lapicque (M.) et Nomura (S.). — Modifications de la chronaxie de la queue et des pattes du têtard au cours de la métamorphose. *C.R. Soc. Biol.*, 1928, 99, p. 596.

241. Larson (J.-A.). — On the functional correlation of the hypophysis and the thyroid. *Amer. Journ. Physiol.*, 1919, 49, p. 55.

242. Lataste (F.). — Du retard qu'éprouvent quelquefois dans leur métamorphose les têtards des Batraciens anoures et de la taille anormale à laquelle ils parviennent. *Act. Soc. Linn. Bordeaux*, 1876, 30, p. VIII.

243. Laufberger. — O vzbuzeni metamorfosy Axolotlu krmenin zon stitnon. *Biologiche Listy*, 1913 (cité par Romeis, Huxley, Hogben).

244. Lebedinsky (N.-G.). — Sur une nouvelle méthode pour étudier l'autodifférenciation des extrémités chez les Amphibiens. *C.R. Soc. Biol.*, 1923, 88, p. 718.

245. Ledebt (S.). — Contribution à l'étude des propriétés biologiques des venins. Action des venins de serpents et des poisons qu'ils engendrent sur quelques vertébrés aquatiques. *Thèse Doctorat ès Sciences Nat. Paris*, 1914.

246. Lein (A.).— Efficacité relative de la molécule iodée dans la thyroxine, la diiodothyroxine et l'iodure de potassium sur la vitesse de la métamorphose chez les Amphibiens. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1937, 36, p. 348.

247. Lelkes (Z.). — Les effets de la glande thyroïde fœtale humaine sur l'évolution des têtards. *Endokr.*, 1936, 17, p. 161.

248. Lenhart (C.-H.). — The influence upon tadpoles of feeding desiccated thyroid gland in variable amounts and of variable iodin contents. *Journ. of exp. Med.*, 1915, 22, p. 739.

249. Lesne (E.) et Binet (L.). — La croissance (étude physiologique). *Traité de physiologie normale et pathologique*, 1934, Masson.

250. Levine (W.-T.). — Réactions pigmentaires chez le têtard après expositions aux rayons X. *Proc. Soc. exper. Biol. and Med.*, 1931, 28. p. 594.

251. Lillie (F.-R.) et Knowlton (F.-P.). — *Zool. Bull.*, 1897, t. I.

252. Lim (R.-K.-S.). — The histology of tadpoles fed with thyroïd. *Quart. Journ. exp. Physiol.*, 1920, 12, p. 303.

253. Lindeman (V.-F.). — Pigmentation des teguments chez la Grenouille au cours de la métamorphose avec une étude spéciale de l'hystolyse de la peau de la queue. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1929, 6, p. 451.

254. Little (M.-E.). — La greffe des tissus de Mammifères à des têtards de Batraciens. *Proc. Soc. f. exp. Biol.*, 1929, 26, p. 372.

255. Locke. — On a supposed Action of Distillated Water as such on certain animal organisms. *Journ. of. Phys.*, 1895, 18, p. 319.

256. Loos (A.). — Ueber degenerations erscheinungen un thierreich bresonders uber die reduction des Froschlarvenschwanzes und die im verlaufe derselben auftre tenden histolytischen processe. *Preisschriften gekront, etc.* Leipzig, 1889.

257. Luciani (F.), Filomeni (M.) et Severi (L.). — L'assimilabilité de divers sels de calcium par les têtards de Grenouille au cours de leur première période de développement. *Riv. Biol.*, 1930, 12, p. 136.

258. Lundberg (E). — Etudes sur le rapport entre les sécrétions internes de la glande thyroïde et celles des glandes sexuelles. *Acta Med. scandinav.*, 1927, 65, p. 499.

259. Lundberg (E.). — Weitere Untersuchungen über die Relation zwischen Thiroidea und Ovarien. *Acta Med. Scandinav.*, 1927, 66, p. 467.

260. Mac Cord (C.-P.) and Marinus (C.-J.). — The effect of the X-rays upon the response of tadpoles to thyroïd stimulation. *Endocrinology*, 1918, 2, p. 289.

261. Macht (D.-J.). — Concerning the effect of prostate feeding on tapdoles. *Proceed. Soc. exp. Biol. Med.*, 1918, 16, p. 138.

262. Marine (D.) and Rogoff (J.-M.). — The absorption of potassium iodide by the thyroid gland in vivo, followving its intravenons injection in constant amounts. *Journ. of Pharmacol. exp. Therap.*, 1916, 8, p. 439.

264. Marine (D.) and Rogoff (J.-M.). — Hour rapidly does the intact thyroïd gland elaborate its specific iodine-containing hormone. *Journ. of Pharmacol. exp. Therap.*, 1916, 9, p. 1.

265. Marine (D.) and Rogoff (J.-M.). — Effect on tadpoles of thyroïd products obtained by alkaline hydrolysis. *Journ. of Pharmacol. exp. Therap.*, 1916, 9, p. 57.

266. Marshall (P.-G.). — L'effet sur la croissance et la toxicité de quelques dérivés halogènes des monohydroxyphenylalanines isomères. *J. of. Physiol*, 1931, 73, p. 215.

267. Mayerowna (Z.). — La glande thyroïde des Amphibiens au moment de la métamorphose. *C.R. Soc. Biol.*, 1922, 87, p. 1175.

268. Mercier (M.-L.). — Les processus phagocytaires pendant la métamorphose des Batraciens Anoures et des insectes. *Thèse de doctorat ès Sciences naturelles*, Nancy, 1906.

269. Merke (F.) und Hubert (T.). — Ueber kombinierte Jod und Schilddrusen Wirkung in Kaul quappen versusch. *Beitr. Zur Klin. chir.*, 1928, 140, p. 432.

270. Metchnikoff (Mme O). — Note sur l'influence des microbes dans le développement des têtards. *Ann. Institut Pasteur*, 1901, 15, p. 631.

271. Meyer (H.). — « Die Narkose und ikre allgemeine Theorie » *In* Bethe. *Handb. d. norm. u. path. Physiol.*, 1927.

272. Meyer (K.) et Hemmi (H.). — *Bioch. Zeitchr.*, 1935, 277, p. 39.

273. Moore (A.). — Further Evidence of the poisonous Effects of the pure Na Cl solution. *American Journ. of Physiol.*, 1900, 4, p. 386.

274. Morse (M.). — The effective principale in thyroid accelerating the involution in frog larvae. *Journ. Biol. chen.*, 1914, 19, p. 421.

275. Moschini (G.). — Der Einfluss der Zufuhr von Ovarium der normale Heune und der Brutheune auf das Waschstum und die métamorphose der Kaulquappen des Frosches. *Endokrinology*, 1928, 3, p. 29.

276. Mouzon (J.). — Peut-on attribuer une valeur thérapeutique au lobe antérieur de l'hypophyse. *Presse Méd.*, 1927, p. 1167.

277. Nagel (A.). — Beobachtungen bei der metamorphose schilddrusenge fut terter Axolotl. *Arch. fur exp. Pathol. Pharmakol.*, 1927, 120, p. 1.

278. Narins (Sidney A.). — Etude quantitative de l'effet du chloroforme sur la consommation d'oxygène du Têtard de *Rana clamitans*. *Phys. Zool.*, 1930, 3, p. 519.

279. Needham (J.). — Le métabolisme des hydrates de carbone chez l'embryon de Grenouille (*Rana temporaria*). *C.R. Soc. Biol.*, 1927, 97, p. 99.

280. Nussbaum (M.). — *Arch. f. Mikr. Anat.*, 1880, 18, et 1906, 68.

281. Opacki (J.). — Le développement de la peau larvaire des Amphibiens dans différents milieux. Les cellules de Leydig comme criterium de la métamorphose. *C.R. Soc. Biol.* 1926, 95, p. 900.

282. Overton (E.). — Studien uber die Narkose, Iena. 1901.

283. Overton (E.). — *Lunds Universitets Arsskrift* N.F. Afd. 2. Bd. 9, Nr. 7. 1913. u. Bd. 14, Nr. 7 (1918).

284. Padoa. — *Monit. Zool. Ital.*, 1936, 47, p. 285.

285. Parker (W.-K.). — On the structure and development of the Skull of the common Frog. *Phil. Trans.*, 1871, 161.

286. Parker (W.-K.). — On the structure and development of the skull of the Batrachia. *Phil. Trans.*, 1876, 166.

287. Pejic. — Recherches expérimentales sur la fonction des amygdales. *Oto Lar. Slavica*, 1932, I, p. 95.

288. Penau (H.), Blanchard (L.) et Simonnet (H.). — L'hypophyse. *Les Presses Universitaires de France*, Paris, 1929.

289. Peredelsky (A.) et Blacher (L.). — Sur le sort de la melanine dans la peau des Amphibiens Hypophysectomisés. *J. Med. Biol.*, 1929, 5, p. 47.

290. Perichanjanz (J.) et Sudzilowkaja (O.). — Sur l'action générale du glucose sur la croissance et la différenciation des têtards de *Rana temporaria*. *Arch. Internat. Pharm. et Ther.*, 1936, 54, p. 349.

291. Perrier (E.). — Traité de 2oologie, t. VII, Les Batraciens, Masson, édit., Paris, 1925.

292. Pighini (G.). — Ricerche sui principi attivi della tiroide normale e patologica. I. Azione dei principe attivi delle estrazioni frazionate della tiroide sulla metamorfosi dei girini. *Biochem. e Ter. sperim.*, 1927, 14, p. 244.

293. Pighini (G.). — L'action de la substance cérébrale et de l'hypophyse antérieure sur les métamorphoses des Têtards. *Riv. sper. Fren.*, 1938, 62, 1, p. 222.

294. Plaut (A.). — L'épreuve de l'acétonitrile et l'épreuve des têtards, avec une tumeur thyroïdienne de l'ovaire. *Klin. Wochft*, 1931, 10. p. 1803.

295. Podhradsky (J.). — *Arch. f. Entw. Mech.*, 1923, p. 52.

296. Podhradsky (J.) et Krizenecky (J.). — *Zeitschr. f. vergl. Physiol.*, 1927, 6, p. 431.

297. Podhradsky (J.). — Nouvelles recherches sur l'utilisation par les animaux aquatiques des matières organiques dissoutes dans l'eau. *C.R. Soc. Biol.*, 1928, 98, p. 1033.

298. Polimanti (Osvaldo). — Influence de l'alimentation par la gélatine, le tapioca et la glutine sur l'accroissement des têtards de Grenouille. *Riv. Biol.*, 1931, 13, p. 423.

299. Puech (A.). — Cures thermales et glandes endocrines. *Presse thermale et climatique*, 1926, p. 329.

300. Puech (A.) et Roche (J.). — Pouvoir agotoxique de quelques eaux minérales vis à vis du novarsenobenzol. *Ann. Soc. Hydr.*, Paris, 1937, 7, p. 267.

301. Puech (A.) et Roche (J.). — Pouvoir phylactique de quelques eaux minérales vis à vis du novarsenobenzol. Note complémentaire. *Ann. Soc. Hydr.* Paris, 1938, 6, p. 314.

302. Puech (A.) et Roche (J.). — Influence de quelques eaux minérales sur la lethalité et le développement du têtard soumis à l'action de la thyroxine. *Ann. Soc. Hydr. Paris*, 1938, 6, p. 317.

303. Pugh (R.). — L'effet du spectre sur la vitesse de croissance des têtards. *Phys. Zool.*, 1935, 2, p. 186.

304. Ransom. — Saponin and sein Gegengift. *Deutsche Medic. Wochenschrift*, 1901.

305. Rauber (A.). — *Sitz. Ber. Naturf. ges.* Leipzig, 1882.

306. Reis (K.). — Sur les comportements des greffes de la peau des Amphibiens. La métamorphose des greffes de la peau larvaire de l'axolotl sur les Amblystomes. *C.R. Soc. Biol.* 1926, 95, p. 903.

307. Reis (K.). — La métamorphose des greffes heteroplastiques de la peau des Amphibiens neotoniques (*Proteus anguineus*). *C.R. Soc. Biol.*, 1932, 109, p. 1015.

308. Remy (P.). — L'iode et la métamorphose de l'*Ammocoetes branchialis* en *Petromyzon planeri* Bloch. *C.R. Soc. Biol.*, 1922, 86, p. 129.

309. Remy (P.). — Les sécrétions internes et les métamorphoses. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 1924, 7, p. 41.

310. Ricci (B.). — Recherches sur le développement des têtards de *Bufo vulgaris* alimentés avec des sucs amygdaliens, adenoïdiens et hypophysaires. *Valsalva*, oct. 1933, p. 753.

311. Riccitelli (L.). — L'existence d'une fonction hormonale de la prostate. *Endokr.*, 1933, 12, p. 23.

312. Ringer (S.). — *Journal of Physiol.*, 1897, 22, *Proceedings*, p. 14.

313. Ringer et Phaer. — The influence of saline media on the Tadpole. *Journal of Physiology*, 1895, 16, p. 423.

314. Roaf (H.) et Whitley (Ed.). — The action of acids and alkalies and of acid, alkaline and neutral salt upon the tadpole of *rana temporaria. Biochemical Journ.*, 1906, 1, p. 88.

315. Rogers (J.-B.). — The effect of the extirpation of the thyroid upon the thymus and the pituitary glands of *Rana pipiens. Journ. of exp. Zool.*, 1918, 24, p. 589.

316. Rogoff (J.-M.) and Marine (D.-). — Effect on tadpole of feeding thyroïd products obtained by alcaline hydrolysis. *Journ. of Pharmacol. exp. Therap.*, 1917, 9, p. 57.

317. Rogoff (J.-M.). — A method for the standardization of thyroid préparations. *Journ. of Pharmacol. exp. Therap.*, 1917, 10, p. 199.

318. Rogoff (J.-M.) and Marine (D.). — Attempts to produce a substance with thyroid like activity by the artificial iodization of proteins. *Journ. of Pharmacol. exp., Therap.*, 1917, 10, p. 321.

319. Rogoff (J.-M.). — Note on the préparation of a soluble concentrated product. of the thyroïd gland. *Journ. of Pharmacol. exp. Therap.*, 1919, 1, p. 207.

320. Rogoff (J.-M.). — The liberation of the internal secretion of the thyroid gland into the blood. *Journ. of Pharmacol. exp. Therap.*, 1919, 12, p. 193.

321. Rolic. — Relative Aktivitat der Schilddrusen von Axolotlen and Amblystomen. *Zurnal exp. noj. Biol. med.*, 1927, 8, p. 60.

322. Romeis (B.). — *Archiv. fur mikr. anat.*, 1925, 104.

323. Romeis (B.). — Experimentelle Untersuchungen uber die Wirkung innersekretorischer irgane. II. Der Einfluss von Thyreoidea-und Thymusfutterung auf das Wachstum, die Entwicklung und die Regeneration von anurenlarven. *Arch. fur Entwicklungsmech.*, 1915, 41, p. 57.

324. Romeis (B.). — Untersuchungen uber die Wirkung des Thyroxins. II. Mitt Ueber die Wirkung des Thyroxins auf Froschlarven. *Bioch. Ztschr.*, 1923, 141, p. 121.

325. Rostand (J.). — Influence de l'urine du jeune enfant sur les larves de Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1935, 99, p. 1054.

326. Roth (P.). — Influence de la teneur de l'eau en calcium dans la croissance et dans la métamorphose expérimentale des têtards de *Rana temporaria*. *C.R. Soc. Biol.*, 1927, 97, p. 1284.

327. Roth (P.). — Influence des constituants salins du milieu sur la métamorphose expérimentale des Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 113, p. 342.

328. Roth (P.). — Effets de la thyroïde humaine pathologique sur la métamorphose des Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1934, 115, p. 101.

329. Roux (P.). — La glande pinéale ou épiphyse. *Thèse doct. Sciences.* Oberling, édit, Paris-Rennes, 1937.

330. Schaper (A.). — Experimentelle Untersuchungen uber den Einfluss der Radium strahlen und der Radiumemanation auf embryonale und regenerative Entwicklungsvorgange. *Anat. Anz. Bd.*, 1904, 25, pp. 298 et 326.

331. Schneersohn (S.). — Sur l'influence de l'hypophyse sur la métamorphose des Amphibiens. *J. Med. Biol.*, 1929, 5, p. 85.

332. Schneyer. — Biologische untersuchungen. *Zeitschrift fur wissenschaftliche Baderkunde*, 1928, 5, p. 424.

333. Schotte (O.). — Le rôle du milieu antérieur dans la régénératio des Batraciens Urodeles. *C.R. Soc. Biol.*, 1926, 94, p. 1177.

334. Schroeder (H.) et Dormann (F.). — Modifications des effets de la thyroxine par la vitamine C dans les expériences sur les têtards. *Endokr.*, 1936, 17, p. 145.

335. Schufeldt (R.-W.). — Mexican Axolotl and its susceptibility to transformation, 1885.

336. Schulze (W.). — Weirete Untersuchungen uber die Wirkung innersekretorischer Drusensubstanzen auf die Morphogenie. II. Neotenie und gesteigertes Wachstum nach thyroidektomie bei *Rana fusca* Larven. *Klin. Woch.*, 1922, p. 895.

337. Schulze (W.). — Ueber Schilddrusen extirpation bei Froschlarven. *Munch. med. Woch.*, 1922, p. 1133.

338. Schwaibold (J.). — Untersuchungen uber dir Wirkung einiger Jod substauzen auf Froschlarven. *Pfluger's Archiv.*, 1928, 220, p. 1.

339. Schwartzbach (S.) ansd Uhlenhuth (E.). — Anterior lobe subtance the thyroid stimulator. II. Effect of feeding antérior lobe upon amphibian metamorphosis. *Proceed. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1928, 27, p. 151.

340. Schwartzbach (S.) and Uhlenhuth (E.). — IV. Effect in the absence of thyroid gland. *Proceed. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1928, 26, 153.

341. Schwartzbach (S.) and uhlenhuth (S.). — V. Basal metabolism. *Proceed. Soc. exp. Biol. Med.*, 1929, 26, p. 389.

342. Schwartzbach (S.) and uhlenhuth (E.). — Morphologie et physiologie de la glande thyroide de salamandre. VII. Les effets du « thyreo-activator » sur les animaux thyroïdectomisés. *Phys. Zool.*, 1933, 3, p. 235.

343. Seaman (E.-C.). — Influence of an alcoholic extract of thyroid upon polyneuritic pigons, and the metamorphosis of tadpoles. *Amer. Journ. Physiol.*, 1920, 52, p. 101.

344. Sembrat (K.). — Recherches expérimentales sur les facteurs provoquant la métamorphose de l'intestin chez les têtards des Anoures (*Pelobates fuscus* Laur). *C.R. Soc. Biol.*, 1924, 90, p. 894.

345. Sembrat (K.). — Nouvelles recherches expérimentales sur les facteurs provoquant la métamorphose de l'intestin chez les têtards d'Anoures. (*Pelobates fuscus* Laur). *C.R. Soc. Biol.*, 1925, 92, p. 1004.

346. Sembrat (K.). — Influence de la glande thyroïde des Selaciens (Scyllium canicula Cuv. et Sc. stellare Gthr.) et des Teleosteens (Cyprinius carpo L.), sur la métamorphose des Têtards des Anoures (Rana Temporaria L.)*C.R. Soc. Biol.*, 1927, 97, p. 1508.

347. Sharpey-Schafer (E.). — The endocrine organs. An introduction to the study of internal secretion. *Longmaus, Green* and C°, Londres, 1926.

348. Siebert et Petrow. — *Zeitschr. f. Klin. Med.*, 1925, 102, p. 434.

349. Siebert. — *Klin. Woch.*, 1928, 7, p. 759 et *Zeitschr. f. Klin. Med.*, 1928, 109, p. 360.

350. Sieburg (E.) and Backmann. — *Biochem. Zeitschr.*, 1921, 1922, 126, p. 130.

351. Slowikowska (S.). — Recherches expérimentales sur le rôle de la glande thyroïde dans la métamorphose des Batraciens. *C.R. Soc. Biol.*, 1923, 89, p. 1396.

352. Slyke (E. Van). — L'effet de l'hormone thyroïdienne sur la dégénérescence des branchies chez *Triturus viridescens. Phys. Zool.*, 1932, 4. p. 555.

353. Smith (P.-E.). — Amer. Anat. Mem., 1920, 9. Cité par Sharpey-Schafer E. in the *Endocrine organs.* II, p. 266.

354. Smith (P.-E.). — A retardation in the rate of metamorphosis of the Colorado Axolotl by injection of antérior hypophyseal fluid. *Brit. Journ. exp. Biol.*, 1926, 3, p. 239.

355. Smith (P.-E.) and Cheney (G.). — Does the administration of the anterior lobe of the hypophysis to the tadpole produce an effect simular to that obtained by thyroïd feeding ? *Endocrinology*, 1921, 5, p. 448.

356. Smith (P.-E.) and Smith (I.-P.). — The repair and activation of the thyroid in the hypophysectomized tadpole by the parenteral administration of fresh antériorlobe of the bovine hypophysis. *Journ. of Med. Res.*, 1922, 43, p. 267.

357. Smith (P.-E.) and Smith (I.-P.). — Retardation of metamorphosis on the Colorado Axolotl by the intraperitonéal injection of fresh bovine hypophyseal antérior lobe substance. *Proceed. Soc. exp. Biol. Med.*, 1922, 20, p. 51.

358. Smith (P.-E.) and Smith (I.-P.). — The function of lobes of hypophysis as indicated by replacement therapy with different portions of ox gland. *Endocri*, 1923, 7, p. 579.

359. Spatz (H.). — Studien uber sudbayerische Kropfe un Kaulquappenversuch und Bemerkungen zu dessen Methodik. *Ztschr. fur Biol.*, 1927, 87, p. 41.

360. Spaul (E.-A.). — Accelerated metamorphosis of frog tadpoles by injections of extract of anterior lobe pituitary gland and the administration of iodine. *Brit. Journ. exper. Biol.*, 1924, 1, p. 313.

361. Spaul (E.-A.). — Experiments on the injection of pituitary body (anterior lobe) extracts to Axolotls. *Brit. Journ. exp. Biol.*, 1924, 2, p. 33.

362. Stassano (H.) et Gompel (M.). — De la toxicité des différents sels de mercure. *C.R. Soc. Biol.*, 1913, 74, p. 1369.

363. Stefl (J.). — Influence de l'administration de vitamine D sur les têtards de Grenouille. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1937, 185, p. 81.

364. Strohl (J.). — Les sécrétions internes au point de vue de la biologie générale. *Rev. Gen. des Sc.*, 1921, 32, p. 262.

365. Strohl (A.). — Précis de physique Médicale. Masson, édit., 1935.

366. Stutinsky. — Contribution à la physiologie hypophysaire des Batraciens. *Thèse doct.* Paris, 1939.

367. Sutter (J.). — L'action antagoniste de la thyroxine et des sels de cuivre étudiée sur la métamorphose de *Rana Temporaria*. *C.R. Soc. Biol.*, 1941, 135, p. 827.

368. Swingle (W.-W.). — The acceleration of metamorphosis in frog larvae by thyroïd feeding antd he effects upon the alimentary tract and sex glands. *Journ. of exp. Zool.*, 1918, 24, p. 521.

369. Swingle (W.-W.). — Studies on the relation of iodine to the thyroïd. I. The effect of feeding iodine to normal and thyroidectomised tadpoles. *Journ. of exp. Zool.*, 1919, 27, p. 397. — II. Comparison of the thyroid glands of iodine fed and normal frog larvae. *Journ. of exp. Zool.*, 1919, 27, p. 147. — III. The specific action ofiodine in accelerating amphibian metamorphosis. *Journ. of gen. Physi.*, 1919, 1, p. 593.

370. Swingle (W.-W.). — IV. Quantitative experiments on iodine feeding and metamorphosis. *Journ. of gen. Physiol.*, 1920, 2, p. 161.

371. Swingle (W.-W.). — The relation of the pars intermedia of the hypophysis to pigmentation changes in anuran larvae. *Journ. exp. Zool.*, 1921, 34, 119.

372. Swingle (W.-W.). — Experiments on the metamorphosis of neotenous amphibians. *Journ. of Exp. Zool.*, 1922, 36, p. 397.

373. Swingle (W.-W.). — Thyroid transplantation and anuran metamorphosis. *Journ. of exp. Zool.*, 1923, 37, p. 219.

374. Swingle (W.-W.). — Is the tadpoles test for thyroid valid. *Endocrinology*, 1924, 8, p. 832.

375. — Swingle (W.-W.), Helff (O.-M.) et Zweiner (R.-L.). Action de la thyroxine et de son dérivé acétylé sur les Amphibiens et les Mammifères. *Amer. J. Physiol.*, 1924, 70, p. 208.

376. Sysven (B.). — Gorwth experiments on tapdoles with cystin and auxin. *Skand. Arch. Physiol.*, 1933, 67, p. 129.

377. Tanberg (A.). — Enthalt die fetale Thyroidea spezifische Stoffe. *Norsk magaz. f. laegevidenskaben*, 1927, 88, p. 692.

378. Terry (G.-S.). — Effects of the exirpation of the thyroïd gland upon ossification in *rana pipiens*. *Journ. of Exp. Zool.*, 1918, 24, p. 567.

379. Titajev (A.). — Hormon gervinnung aus der isolierten Schilddruse. *Zurn. eksper. Biol., i. Med.*, 1929, 12, p. 226.

380. Tixier (G.). — Hormones et Vitamines. Principales corrélations. Actions synergiques et actions antagonistes. *Europe Médicale*, 1928, 2, p. 8.

381. Traube (J.). — Theorie des Haftdruckes und Lipoidtheorie. *Bioch. Zeits.*, 1913, 54, p. 305.

382. Trilok Nath Seth. — Effet de la dilution sur la toxicité d'un poisson. *J. Pharm. a exp. Ther.*, 1931, 42, p. 333.

383. Uhlenhuth (E.). — Nature of the retarding influence of the thymus upon amphibian metamorphosis. *Journ. of gen. Physiol.*, 1919, 1., p. 305.

384. Uhlenhuth (E.). — Relation between the thyroid gland metamorphosis and growth. *Journ. of gen. Physiol.*, 1919, 1, p. 473.

385. Uhlenhuth (E.). — Relation between metamorphosis and ether developmental phenomena in amphibians. *Journ. of gen. Physiol.*, 1919, 1, p. 525.

386. Uhlenhuth (E.). — The internal secretion in growth and development of Amphibians. *The Amer. Nat.*, 1921, 55, p. 193.

387. Uhlenhuth (E.). — The effect of iodine and iodothyrine on the larvae of salamanders. The effect of iodothyrine and iodine on the metamorphosis of Amblystoma maculatum. *Endocrinology*, 1922, 6, p. 102.

388. Uhlenhuth (E.). — The elaboration and release of the colloid of the thyroid. *Proced. Soc. exp. Biol. Med.*, 1923, 20, p. 494.

389. Uhlenhuth (E.). — Further facts regarding of feeding the anterior lobe of hypophysis on the rate of growth and the size of Amblystoma tigrinim. *J. exp. Zool.*, 1913, 37, p. 101.

390. Uhlenhuth (E.) and Schwartzbach (S.). — Anterior lobe substance, the thyroid stimulator. Induces precocious metamorphosis. *Proceed. Soc. exp. Biol. Med.*, 1928, 26, p. 149.

391. Uhlenhuth (E.). — Anterior lobe substance ,the thyroid stimulator. III. Effect of anterior lobe substance on thyroid gland. *Proceed. Soc. exp. Biol. Med.*, 1928, 26, p. 152.

392. Unger. — *Bioch. Zeits.*, 1918, 89, p. 238.

393. Vernon. — *J. of Physiol.*, 1913, 47, p. 15.

394. Viale (G.). — *Bol. dis. soc. ital. di. Biol. sper.*, 1932, 7, p. 708.

395. Vialli (M.). — Richerche metamorphosi degli amphibi. Innesti di di epifisi in urodeli neotenici. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, 1931, 1, p. 1052.

396. Vilter (V.). — Action du rayonnement solaire d'altitude sur le développement des larves de *Rana temporaria*. *C.R. Soc. Biol.*, 1930, 103, p. 658.

397. Vilter (V.). — Les rapports entre le contrôle hormonal et neuro-humoral de la pigmentation melanique chez l'Axolotl. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 112, p. 1655.

398. Vulpian. — Note sur l'effet de diverses substances toxiques sur les embryons de Grenouille et de Tritons. *C.R. Soc. Biol.*, 1858, 10, p. 71.

399. Watrin (J.). — Action comparative des rayons X et des rayons ultra-violets sur les développements des larves de *Rana temporaria* *C.R. Soc. Biol.*, 1926, 95, p. 189.

400. Weber (A.). — Recherches sur le sommeil anesthésique de larves de Batraciens. Influence du poids de la larve. *C.R. Soc. Biol.*, 1919, 82, p. 862.

401. Weber (A.). — Recherches sur le sommeil anesthésique de larves de Batraciens. Influence de la température. *C.R. Soc. Biol.*, 1919, 82, p. 964.

402. Weber (A.). — Recherches sur le sommeil anesthésique des larves de Batraciens .Influence de la répétition des expériences à une même température. *C.R. Soc. Biol.*, 1919, 82, p. 966.

403. Weber (A.). — Influence de la répétition des expériences à des températures différentes. *C.R. Soc. Biol.*, 1919, 82, p. 970.

404. Weber (A.). Recherches sur le sommeil anesthésique de larves de Batraciens. Influence de la durée du séjour des têtards dans l'anesthésique. *C.R. Soc. Biol.*, 1919, 82, p. 972.

405. Weber (A.). — Influence du stade de développement sur les résultats de l'implantation de larves d'Anoures sur adultes de même espèce. *C.R. Soc. Biol.*, 1923, 88, p. 1253.

406. Weber (A.). — Modifications expérimentales de la croissance des membres chez *Rana fusca*. *C.R. Soc. Biol.*, 1925, 93, p. 342.

407. Weber (A.). Recherches expérimentales sur l'origine des membres chez les Batraciens Anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1926, 95, p. 161.

408. Weber (A.). — Quelle est la cause naturelle de l'hystolyse amenant la perforation de l'opercule branchial lors de la métamorphose des Batraciens anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1930, 104, p. 1132.

409. Weber (A.). — L'innervation des ébauches des membres chez un Batracien anoure (*Bombinator pachypus*). *C.R. Soc. Biol.*, 1930, 105, p. 509.

410. Weber (A.). — La dégénérescence des branchies internes ,en l'absence de secrétion des glandes cutanées du membre thoracique, ne peut provoquer la perforation de l'opercule brachial chez les Batraciens anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1931, 107, p. 435.

411. Weber (A.). — Destinée des branhcies internes et de la cavité qui les entoure lors de la métamorphose des Batraciens anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1931, 107, p. 437.

412. Wegelin (C.) und Abelin (J.). — Ueber die Wirksamkeit der mens chlichen Schilddruse un Froschlarvenversuch. *Arch. fur exp. Pathol. Pharmacol.*, 1921, 89, p. 219.

413. Windans (A.). — Uber die Entgiftung der Saponin durch Cholesterin. *Bera. Deutsch. chem. Ges.*, 1909, 42, p. 238.

414. Wintrebert (P.). — Sur le développement de la moelle caudale chez les larves d'anoures. *C.R. Soc. Biol.*, 1905, 59, p. 170.

415. Wintrebert (P.). — Sur la métamorphose de *Salamandra maculosa* dans les régions du système nerveux médullaire. *C.R. Soc. Biol.*, 1905, 59, p. 407.

416. Wintrebert (P.). — Sur la régression de la queue en l'absence des centres médullaires chez *Rana viridis*. *C.R. Soc. Biol.*, 1905, 59, p. 578.

417. Wintrebert (P.). — Sur l'accomplissement régulier des fonctions de nutrition, des processus d'ontogénèse, de régénération et de métamorphose chez les larves d'Alytes en l'absence d'une grande étendue de la moelle. *C.R. Soc. Ciol.*, 1906, 60, p. 70.

418. Wintrebert (P.). — La métamorphose de *Salamandra maculosa* laur., en dehors de la moelle et des ganglions spinaux. Etude histologique *C.R. Soc. Biol.*, 1906, 60, p. 73.

419. Wintrebert (P.). — De l'influence des eaux radio-actives de Plombières sur la croissance et la métamorphose des têtards de *Rana viridis*. *C.R. Soc. Biol.*, 1906, 60, p. 295.

420. Wintrebert (P.). — *C.R. Assoc. Fr. Av. Sc.* Congrès de Reims, 1907.

421. Wintrebert (P.). — Sur le déterminisme de la métamorphose chez les Batraciens anoures. Influence d'un milieu chargé d'acide carbonique. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 62, p. 1106. — II. Le manque de respiration pulmonaire. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 62, p. 1154. — IV. Le fonctionnement variable des branchies et la théorie de l'asphyxie. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 63, p. 85. — VI. La mise des larves hors de l'eau. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 63, p. 257. — VII. La marche anormale des phénomènes chez les têtards mis hors de l'eau et les larves en inanition. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 63, p. 403. — IX. L'adaptation au milieu *C.R. Soc. Biol.*, 1907, 63, p. 521.

422. Wintrebert (P.). — Sur le déterminisme de la métamorphose chez les Batraciens. X. Une demi-métamorphose expérimentale. *C.R Soc. Biol.*, 1908, 64, p. 415.

423. Wintrebert (P.). — Essai sur le déterminisme de la métamorphose chez les Batraciens. *A.F.A.S.* Reims, 1908.

424. Wintrebert (P.). — Sur le déterminisme de la métamorphose chez les Batraciens. XI. Les caractères anatomiques du demi-amblystome à branchies. *C.R. Soc. Biol.*, 1908, 65, p. 549.

425. Wintrebert (P.). — Les premiers stades du mouvement chez l'Axolotl. *C.R. Soc. Biol.*, 1914, 76, p. 303.

426. Wollman (E.). *Ann. Institut Pasteur*, 1911, 25.

427. Wollman (E.) et (E.). — Les microbes dans l'alimentation des têtards. *C.R. Soc. Biol.*, 1915, 78, p. 195.

428. Wollman (E.). — La méthode des élevages aseptiques en physiologie. *Arch. Inter. Physiol.*, 1921, 18, p. 195.

429. Yung (E.). — De l'influence de la nature des aliments sur le développement de la Grenouille. *C.R. Acad. Sc.*, 1881, 92, p. 1515.

430. Yung (E.). — De l'influence des milieux physicochimiques sur les êtres vivants. *Arch. Sc. Phys. Nat.* Genève, 1882, 3, p. 225.

431. Yung (E.). — Développement de la sexualité des larves de Grenouille et influence d'un mouvement de vagues sur le développement. *C.R. Assoc. franc.*, 1886, 14, p. 151.

432. Yung (E.). — Influence du mouvement de vagues sur le développement des larves de grenouilles. *C.R. Acad. Sc.* 1898, 126, p. 1107.

433. Zavadowsky (B.-M.) ans Zavadowsky (E.-V.). — Application of the Axolotl metamorphosis reaction to the quantitative assay of thyroid gland hormones. *Endocrinology*, 1926, 10, p. 550.

434. Zavadowsky (B.-M.) und Asimoff (G.). — Zur Frage der Feststellung von Thyroxin in Organismus hyperthyreoidisierter Saügetiere. *Pfluger's Archiv.*, 1927, 216, p. 65.

435. Zavadowsky (B.-M.), Titajev (A.-A.), Perelmutter (Z.-M.) und Raspopowa (N.-A.). — Ueber die Wirkung der Jodpraparate auf die Metamorphose der Axolotl. *Pfluger's Arch.*, 1927, p. 198.

436. Zavadowsky (B.-M.) und Novikova (M.). — Relative aktivitat der Schilddrusen der Wurbeltiere. *Zurn. Eksper. Biol. Med.*, 1927, 8, p. 512.

437. Zavadowsky (B.) und Liptschina (L.). — Ueber die Anwendung der Metamorphose reaction bei Axolotl Zur Standardisierung des Hormons der Schilddruse. *Ztrsch. Ges. exp. Med.*, 1928, 62, p. 27.

438. Zadavowsky (B.) und Liptschina (L.). — Anwendung der metamorphose von Axolotlen zur Standartisierung des Schilddrusenhormons. *Zurn. eksper. Biol. Med.*, 1928, 8, p. 591.

439. Zondek (H.) und Reiter (T.). — Hormon Wirkung und kationen. *Klin. Woch.*, 1923, p. 1344.

440. Zondek (H.) und Ucko (H.). — Hormon wirkung und Wasserstoffioven konzentration. *Klin. Woch.*, 1924, p. 1752.

441. Zondek (H.) und Ucko (H.). — Nachtrag zu unserem Aufsatz in Jg 3, N° 39, dieser Woschenschift. *Klin. Woch.*, 1924, p. 2009.

442. Zondeck (H.). und Ucko (H.). — Die Zweiphasen Wirkung der Hormone. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Antagonistischen Inkret wirkungen. *Ztschr. Physiol. Chem.*, 1925, 147, p. 111.

Vu : Clermont-Ferrand, le 23 avril 1942.

Le Président du Jury,

Ch. LAPP.

Vu et approuvé :

Clermont-Ferrand, le 24 avril 1942.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

A. SARTORY.

Vu et permis d'imprimer :

Clermont-Ferrand, le 26 avril 1942.

Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,

Pour le Recteur,
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,

A. DANJON.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction. 9

Avant-propos. LA MÉTAMORPHOSE DES BATRACIENS.

Les processus de la métamorphose. 11
Diversités suivant les espèces et les groupes. 14

Chapitre premier. — FACTEURS PHYSIQUES.

Température. 15
Pression osmotique. 16
Radiations. 19
Espace. 21
Agitation. 21

Chapitre II. — FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES.

Eau. 22
Oxygène. 23
Gaz carbonique. 25
Acidité ionique. 27

Chapitre III. — FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES : SELS MINÉRAUX ET ORGANIQUES.

Pénétration. 29
Toxicité. 30
Action sur la croissance 35

Chapitre IV. — FACTEURS ALIMENTAIRES.

Inanition. 41
Absorption et assimilation. 43
Élevages septiques et aseptiques. 46

Protides, glucides et lipides. 48
Régimes complexes. 50
Vitamines 55
Aliments irradiés. 56

Chapitre V. — FACTEURS ENDOCRINIENS : LA THYROIDE.

Effets de la thyroïdectomie. 59
Administration de thyroïde aux larves d'Anoures. 60
Larves d'Urodeles. 62
Larves d'Urodeles Perenibranches 65

Chapitre VI. — INFLUENCE DE LA NATURE DES PRÉPARATIONS THYROIDIENNES.

Thyroïdes normales et pathologiques. 66
Produits de perfusion. 68
Produits d'hydrolyse. 68
Produits de fractionnement. 69
Thyroxine et dérivés. 70

Chapitre VII. — FACTEURS EXTRINSÈQUES CAPABLES DE MODIFIER L'ACTION DES PRÉPARATIONS THYROIDIENNES.

Volume de la solution. 71
Température. 71
Réaction ionique. 72
Sels minéraux. 72
Alimentation. 76
Antithyroïdiens 76
Substances diverses. 77
Rayons X. 77

Chapitre VIII. — SPÉCIFICITÉ DE L'ACTION THYROIDIENNE.

Spécificité endocrinienne de la thyroïde. 79
Spécificité des dérivés thyroïdiens : l'iode. 81
Iodures alcalins 82
Dérivés iodés. 83
Aminés iodées. 83
Protides iodés. 84

Chapitre IX. — TITRAGE DES PRÉPARATIONS THYROIDIENNES SUR LES LARVES DE BATRACIENS.

Dose de thyroxine. 86
Durée de séjour dans les solutions 86
Age de la larve. 88
Sensibilité particulière des différents tissus. 89
Etalon. 91
Pratique de l'essai. 91
Méthode de Gaddum. 92
Méthode de Kreitmair. 94
Critique de Swingle. 95

Chapitre X. — FACTEURS ENDOCRINIENS : L'HYPOPHYSE.

Têtards hypophysectomisés. 96
Têtards normaux. 97
Axolotls. 97
Déterminisme de la métamorphose. 98

Chapitre XI. — FACTEURS ENDOCRINIENS AUTRES QUE LA THYROIDE ET L'HYPOPHYSE.

Epiphyse. 100
Thymus. 101
Rate. 101
Surrénales. 102
Pancréas. 102
Glandes génitales. 104

Chapitre XII. — AUTRES EXTRAITS D'ORGANES.

Extraits organiques. 105
Extraits tissulaires. 105
Extraits embryonnaires 107
Venins de serpents. 109

Chapitre XIII. — NARCOTIQUES.

Têtards et colorants vitaux. 111
Narcose des têtards et coefficient de partage 112
Narcose des têtards et phénomènes d'oxydation. . 114
Narcose des têtards et tension superficielle. 114
Sensibilité des têtards suivant le stase du développement. 115

Sensibilité des têtards aux solutions éthérées. 116
Influence de la narcose sur le développement des têtards. 122
Narcose, motilité et développement 123

Chapitre XIV. — SAPONINES.

Expérience d'Overton. 126
Expériences personnelles : influence de la saponine 129
Expériences personnelles : action des sels..... 129
Expériences personnelles : action des sucres. 132
Expériences personnelles : action du cholestérol .. 134

Chapitre XV. — AUTRES SUBSTANCES ORGANIQUES.

Toxicité et mode d'action 135
Influence du pH et des sels minéraux..... 137

Conclusions générales. 138

Conclusions personnelles. 139

Bibliographie. 141

Imp. Générale, J. de Bussac, 2, cours Sablon, Clermont-Ferrand